



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA
BIODIVERSIDADE

VITÓRYA MENDES DA SILVA MONTEIRO

**PROSPECÇÃO DO EXTRATO FRESCO E FRAÇÕES DE PARIRI (*Fridericia chica*)
FRENTE a *Aeromonas* PATOGÊNICAS MULTIRRESISTENTES A
ANTIMICROBIANOS ISOLADAS DE TAMBAQUIS
(*Colossoma macropomum*) DA ILHA DO MARANHÃO**

São Luís

2026

VITÓRYA MENDES DA SILVA MONTEIRO

**PROSPECÇÃO DO EXTRATO FRESCO E FRAÇÕES DE PARIRI (*Fridericia chica*)
FRENTE a *Aeromonas* PATOGÊNICAS MULTIRRESISTENTES A
ANTIMICROBIANOS ISOLADAS DE TAMBAQUIS
(*Colossoma macropomum*) DA ILHA DO MARANHÃO**

Dissertação de Mestrado apresentada em
cumprimento às exigências do Programa de
Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da
Biodiversidade (PPGECB) da Universidade
Estadual do Maranhão (UEMA)

Orientadora: Profa. Dr^a. Nancyleni Pinto
Chaves Bezerra

Coorientadora: Profa. Dr^a. Amanda Mara Teles

São Luís

2026

Monteiro, Vitória Mendes da Silva
Prospecção do Extrato Fresco e Frações de Pariri (*Fridericia chica*)
frente a *Aeromonas* Patogênicas Multirresistentes a Antimicrobianos
Isoladas de Tambaquis (*Colossoma macropomum*) da Ilha do
Maranhão/ Vitória Mendes da Silva Monteiro. – São Luís, 2026.

98 f

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ecologia e
Conservação da Biodiversidade, Universidade Estadual do Maranhão,
2026.

Orientador(a): Profa. Dra. Nancyleni Pinto Chaves Bezerra.
Co-orientador(a): Profa. Dra. Amanda Mara Teles.

1. *Aeromonas* sp. 2. Resistência bacteriana 3. Ecossistemas
aquáticos. I.Título

CDU: 615.281.9000.0:000.000(000.0)

VITÓRYA MENDES DA SILVA MONTEIRO

**PROSPECÇÃO DO EXTRATO FRESCO E FRAÇÕES DE PARIRI (*Fridericia chica*)
FRENTE À *Aeromonas* PATOGÊNICAS MULTIRRESISTENTES A
ANTIMICROBIANOS ISOLADAS DE TAMBAQUIS (*Colossoma macropomum*) DA
ILHA DO MARANHÃO**

Dissertação de Mestrado apresentada em
cumprimento às exigências do Programa de
Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da
Biodiversidade (PPGECB) da Universidade
Estadual do Maranhão - UEMA.

Aprovada em: 16/01/2026

Banca Examinadora

Documento assinado digitalmente
 **NANCYLENI PINTO CHAVES BEZERRA**
Data: 03/02/2026 11:20:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dr^a. Nancyleni Pinto Chaves Bezerra
Orientadora
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

Documento assinado digitalmente
 **AMANDA MARA TELES**
Data: 03/02/2026 18:07:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dr^a. Amanda Mara Teles
Coorientadora
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

Documento assinado digitalmente
 **ADRIANA CRISTINA BORDIGNON**
Data: 03/02/2026 12:43:46-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dr^a. Adriana Cristina Bordignon
Primeiro Avaliador
Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA

Documento assinado digitalmente
 **DEBORA MARTINS SILVA SANTOS**
Data: 03/02/2026 17:20:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dr^a. Débora Martins Silva Santos
Segundo Avaliador
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

Dedico à minha mãe, Suely, que sempre acreditou em mim, me apoiou incondicionalmente e celebrou cada conquista ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu Deus, por Seu imenso amor e misericórdia. Por me capacitar em cada etapa deste processo e me permitir chegar até aqui. Toda honra e glória a Ti.

Aos meus pais, Suely e Vicente, por me criarem com tanta dedicação, oferecendo tudo o que tinham – e muitas vezes o que nem tinham – para que eu pudesse trilhar meus caminhos e realizar meus sonhos. Ao meu irmão Bernardo, que sempre foi um braço forte, me apoiando em cada passo.

Ao meu namorado José William, meu parceiro fiel desde o início da seleção do mestrado, que tornou tudo isso possível ao realizar minha inscrição no processo seletivo quando fiquei impossibilitada de me inscrever. Obrigada por segurar minha mão nos momentos mais difíceis, pela escuta atenta, por cada gesto de cuidado e incentivo. Por comemorar comigo cada pequena conquista e por nunca deixar que eu enfrentasse nada sozinha. Te ter ao meu lado fez toda a diferença.

À minha orientadora, professora Nancyleni P. C. Bezerra, pela paciência, competência e sensibilidade, que foram fundamentais para a construção deste trabalho e para o meu crescimento pessoal e acadêmico. Aprender com você é um privilégio. Agradeço por cada troca, orientação e ensinamento ao longo desses anos. Minha eterna gratidão!

À minha co-orientadora, professora Amanda Mara Teles, um verdadeiro presente do mestrado, que se tornou não apenas parceira de trabalho, mas também amiga. Obrigada pela dedicação, por estar sempre disposta a orientar, explicar, sugerir caminhos e até por me ensinar a gostar dos fungos. Obrigada por tudo!

À minha querida Mikaelly Moanny. Mika, você foi essencial para este trabalho. Obrigada por todo o suporte na etapa química da pesquisa, por tornar os dias de trabalho na Universidade Federal do Maranhão mais leves com tantas conversas e risadas, por sua paciência em me ajudar nas análises e até pelos áudios de podcast resolvendo minhas dúvidas. Te conhecer foi incrível!

Ao Ruan Vale, meu grande parceiro que sempre está presente. Obrigada pela parceria incansável, por me ajudar desde separar folhinha por folhinha das amostras até tantas outras etapas desse processo. Obrigada por tudo, você é um amigo mais que irmão.

Ao Kaique Oliveira, por sua disponibilidade e contribuição com esta pesquisa. À Greiciene dos Santos, por toda a ajuda na obtenção dos exemplares de pariri, essenciais para a execução deste trabalho. Muito obrigada!

À Lindsey, minha cadelinha esperta e valente, companheira em tantos momentos desde a minha infância. Me deixou dias antes da minha qualificação e, com o coração triste, mas cheio do amor que vivemos juntas eu segui em frente e fiz um bom trabalho. Isso também é por você, minha pequena. Te levo comigo, sempre.

À equipe do Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água – LMAA, composta por profissionais competentes e sempre dispostos a ajudar. Meu sincero agradecimento a todos, em especial à Gisely Jovita.

Aos meus colegas de turma Maria Clara, Sara, Verdson, Bruno e Karen, por tornarem o processo mais leve em meio às rotinas de coleta, disciplinas e obrigações do mestrado. Vocês são profissionais incríveis e companhias que fizeram diferença.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro que viabilizou a realização deste trabalho e permitiu minha dedicação à pesquisa. À Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), por ser o espaço de formação e crescimento acadêmico. Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade (PPGECB), por contribuir imensamente para minha formação científica.

Por fim, a todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho – meu mais sincero agradecimento. **Eu não teria conseguido sem vocês.**

RESUMO

A presença de bactérias multirresistentes no ambiente aquático representa um desafio à saúde de peixes e a saúde pública. Diante da escassez de antimicrobianos regulamentados para uso em peixes nativos, cresce o interesse por alternativas naturais, como os extratos vegetais. Dessa forma, objetivou-se com o estudo realizar a prospecção do extrato fresco e frações de pariri (*Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann) frente a *Aeromonas* patogênicas multiressistentes a antimicrobianos isoladas de tambaquis oriundos da Ilha do Maranhão. Para a realização do estudo, foram utilizadas 54 isolados bacterianos oriundos de *C. macropomum*, confirmadas para o gênero *Aeromonas* sp. por testes fenotípicos e molecular e, multirresistentes a antibióticos de uso comercial. Para a avaliação do perfil antimicrobiano foi preparado o extrato e as frações (hexânica, diclorometânica, acetato de etila e aquosa) da folha fresca de *F. chica* pelos processos extrativos de maceração, rotoevaporação, liofilização e partição líquido-líquido. A determinação de fenólicos totais e flavonoides do extrato e frações ocorreu pelo método de Folin-Ciocalteu e regressão linear, com a leitura realizada em espectrofotômetro e, a determinação dos espectros de massa do extrato fresco realizada por infusão direta em espectrômetro de massas. O teste da atividade antimicrobiana dos isolados foi realizado com o extrato fresco e frações sendo determinada a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM). Para a CIM, foi utilizada a resazurina como marcador para verificação da viabilidade bacteriana pelo método de diluição em microplacas e, para o CBM realizou-se o método *spread-plate* com o ágar plate count. Para a avaliação da toxicidade, foi realizado o teste *in vivo* do extrato e suas frações, com 120 larvas da espécie *Tenebrio molitor*. A gentamicina foi utilizada como controle positivo tanto no CIM como no CBM. O extrato fresco ($3172 \pm 1,90$) e a fração de acetato de etila ($2605 \pm 1,65$) exibiram os maiores teores de fenólicos totais e de flavonoides totais. Na análise química do extrato fresco, foram identificados os compostos químicos Carajurona (m/z 285,0723) e Carajurina (m/z 299,0876). Nos resultados da CIM, a fração acetato de etila (1,95 µg/mL) e diclorometânica (15,62 a 31,25 µg/mL) apresentaram melhor desempenho para inibir o crescimento dos 54 isolados, seguido do extrato fresco (39,06 a 10000 µg/mL). Já, as frações hexânica e aquosa (10000 µg/mL) se mostraram inibidores fracos. A gentamicina apresentou no CIM e CBM, atividade antimicrobiana semelhante, variando de 3,12 a 25 µg/mL. Os extratos de *F. chica* apresentaram baixa toxicidade aguda em *T. molitor*, com 100% de sobrevivência nos controles e baixa redução da taxa de sobrevivência, apenas na maior concentração testada para a fração diclorometânica. Conclui-se que a fração de acetato de etila e diclorometânica da *F. chica* demonstraram

desempenho potente a moderado contra os isolados de *Aeromonas* spp. obtidos de *C. macropomum*. Os resultados deste estudo evidenciam o potencial de *F. chica* no controle de aeromonose em tambaqui, contribuindo para a redução do uso de antibióticos sintéticos e fortalecendo ações voltadas à conservação da biodiversidade e à proteção dos ecossistemas frente à disseminação da resistência antimicrobiana. Como forma de promover a discussão da resistência a antimicrobianos em organismos aquáticos e seu impacto direto à Uma Só Saúde elaborou-se o guia orientativo (ilustrado e em linguagem acessível), primando pela missão das universidades em produzir e difundir conhecimento intramuros e extramuros, propiciando a interação dialógica, interdisciplinaridade, indissociabilidade entre o ensino-pesquisa-extensão, impacto na formação do estudante e na transformação social.

Palavras-chave: *Aeromonas* sp. Resistência bacteriana. Ecossistemas aquáticos. Bioprospecção.

ABSTRACT

The presence of multidrug-resistant bacteria in aquatic environments represents a challenge to fish health and public health. Given the scarcity of antimicrobials regulated for use in native fish, interest in natural alternatives, such as plant extracts, has increased. Thus, this study aimed to prospect the fresh extract and fractions of pariri (*Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann) against pathogenic *Aeromonas* spp. multidrug-resistant to antimicrobials isolated from tambaqui originating from the Island of Maranhão. For this purpose, 54 bacterial isolates from *C. macropomum* were used, confirmed as belonging to the genus *Aeromonas* sp. by phenotypic and molecular tests and characterized as multidrug-resistant to commercially used antibiotics. For the evaluation of the antimicrobial profile, the fresh leaf extract of *F. chica* and its fractions (hexane, dichloromethane, ethyl acetate, and aqueous) were prepared through maceration, rotary evaporation, lyophilization, and liquid–liquid partitioning processes. The determination of total phenolic compounds and flavonoids in the extract and fractions was performed using the Folin–Ciocalteu method and linear regression, with readings taken using a spectrophotometer, while mass spectra of the fresh extract were determined by direct infusion into a mass spectrometer. The antimicrobial activity of the isolates was evaluated using the fresh extract and fractions, with the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) determined. For MIC determination, resazurin was used as a viability marker by the microdilution method in microplates, and for MBC determination, the spread-plate method with plate count agar was applied. Toxicity assessment was carried out through an in vivo test of the extract and its fractions using 120 larvae of the species *Tenebrio molitor*. Gentamicin was used as a positive control in both MIC and MBC assays. The fresh extract (3172 ± 1.90) and the ethyl acetate fraction (2605 ± 1.65) exhibited the highest levels of total phenolics and total flavonoids. Chemical analysis of the fresh extract identified the compounds carajurone (m/z 285.0723) and carajurin (m/z 299.0876). In MIC assays, the ethyl acetate fraction ($1.95 \mu\text{g/mL}$) and the dichloromethane fraction ($15.62\text{--}31.25 \mu\text{g/mL}$) showed the best performance in inhibiting the growth of the 54 isolates, followed by the fresh extract ($39.06\text{--}10,000 \mu\text{g/mL}$). In contrast, the hexane and aqueous fractions ($10,000 \mu\text{g/mL}$) were weak inhibitors. Gentamicin exhibited similar antimicrobial activity in both MIC and MBC assays, ranging from 3.12 to $25 \mu\text{g/mL}$. Extracts of *F. chica* showed low acute toxicity in *T. molitor*, with 100% survival in the controls and a slight reduction in survival rate only at the highest concentration tested for the dichloromethane fraction. It is concluded that the ethyl acetate and dichloromethane fractions of *F. chica* demonstrated potent to moderate activity

against *Aeromonas* spp. isolates obtained from *C. macropomum*. The results of this study highlight the potential of *F. chica* in the control of aeromonosis in tambaqui, contributing to the reduction of synthetic antibiotic use and strengthening actions aimed at biodiversity conservation and ecosystem protection against the spread of antimicrobial resistance. As a way to promote discussion on antimicrobial resistance in aquatic organisms and its direct impact on the One Health approach, an educational guide (illustrated and written in accessible language) was developed, reinforcing the mission of universities to produce and disseminate knowledge both within and beyond academic environments, fostering dialogical interaction, interdisciplinarity, the inseparability of teaching–research–extension, and positive impacts on student education and social transformation.

Keywords: *Aeromonas*. Bacterial resistance. Aquatic ecosystems. Bioprospecting.

LISTA DE FIGURAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Figura 1	Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>).....	24
-----------------	---	----

METODOLOGIA

Figura 2	Amostra de <i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L.G. Lohmann (pariri) coletada no município de São Luís, estado do Maranhão.....	29
Figura 3	Partição líquido-líquido das frações de <i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L.G. Lohmann.....	30
Figura 4	Determinação dos compostos fenólicos totais das frações de <i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L.G. Lohmann.....	31
Figura 5	Purificação dos Isolados de <i>Aeromonas</i> sp. em Ágar Sangue.....	32
Figura 6	Concentração Inibitória Mínima (CIM) da fração Acetato de Etila de <i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L.G. Lohmann após adição da enzima resazurina (marcador).....	34
Figura 7	Teste de toxicidade aguda em larvas de <i>Tenebrio molitor</i>	35

CAPÍTULO 1

Figure 1	Mass spectrum of the fresh extract of <i>Fridericia chica</i> obtained by direct infusion electrospray ionization in positive mode (ESI ⁺).....	49
Figure 2	Survival curve analysis of <i>Tenebrio molitor</i> larvae exposed to different concentrations of fresh extract (FE) and dichloromethane (DM) and ethyl acetate (EA) fractions of <i>Fridericia chica</i>	56

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Table 1	Extraction yield of fresh extract and aqueous, dichloromethane, hexane, and ethyl acetate fractions of <i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L.G. Lohmann.....	48
Table 2	Total phenolic content of fresh extract and aqueous, dichloromethane, hexane, and ethyl acetate fractions of <i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L.G. Lohmann.....	48
Table 3	Minimum inhibitory concentration (MIC) of fresh extract and aqueous, dichloromethane, hexane, and ethyl acetate fractions of <i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L.G. Lohmann, and gentamicin, against 54 <i>Aeromonas</i> spp. isolates after 24 h of exposure.....	52
Table 4	Minimum bactericidal concentration (MBC) of fresh extract and dichloromethane and ethyl acetate fractions of <i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L.G. Lohmann, and gentamicin, against 54 <i>Aeromonas</i> spp. isolates after 24 h of exposure.....	53
Table 5	Acute toxicity assessment based on survival of <i>Tenebrio molitor</i> larvae over 7 days following treatment with different concentrations of fresh extract and fractions of <i>Fridericia chica</i>	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	American Type Culture Collection
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DMSO	Dimetilsulfóxido
HGT	Transferência Horizontal de Gene
kg	Quilograma
km	Quilômetro
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
MAS	<i>Aeromonas</i> móveis
mg	Miligrama
MGE	Elementos Genéticos Móveis
mL	Mililitro
mm	Milímetro
nm	Nanômetro
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
PCA	Plate Count Agar
POAs	Produtos de Origem Animal
RAM	Resistência Antimicrobiana
UEMA	Universidade Estadual do Maranhão
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFMA	Universidade Federal do Maranhão
VGT	Transferência Genética Vertical
µG	Micrograma
µL	Microlitro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. JUSTIFICATIVA E IMPORTÂNCIA DO ESTUDO	18
3. HIPÓTESE CIENTÍFICA DO TRABALHO.....	20
4. OBJETIVOS	20
4.1 Objetivo Geral	20
4.2 Objetivos Específicos.....	20
5. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	21
5.1 Resistência Antimicrobiana (RAM) em Ambientes Aquáticos	23
5.1.1 Modos de Disseminação de Genes de Resistência.....	22
5.2 <i>Colossoma macropomum</i> (Tambaqui).....	23
5.3 Gênero <i>Aeromonas</i> sp.....	25
5.4 <i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L. G. Lohmann.....	27
5.4.1 Potencial bioativo e fitoquímico de <i>Fridericia chica</i>	27
6. METODOLOGIA.....	28
6.1 Material Vegetal	28
6.2 Preparo do Extrato Fresco e Frações de <i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L. G. Lohmann ..	29
6.3 Quantificação de Compostos Fenólicos e Flavonóides Totais	30
6.4 Análise em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência do Extrato Fresco e Frações de <i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L.G. Lohnmann	31
6.5 Isolados Bacterianos de <i>Aeromonas</i> sp.....	31
6.5.1 Determinação da Concentração Inibitória mínima (CIM).....	33
6.5.2 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)	34

6.6 Teste de Toxicidade com Larvas de <i>Tenebrio molitor</i>	35
6.7 Análise Estatística	36
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
7.1 Capítulo 1	37
7.2 Capítulo 2 – GUIA ORIENTATIVO	67
CONCLUSÃO GERAL	85
REFERÊNCIAS	86

1. INTRODUÇÃO

Os antimicrobianos são empregados para combater uma infecção estabelecida em determinado organismo, no entanto, quando utilizados de forma incorreta, seja profilática ou para finalidades produtivas, determinam sérios problemas à saúde humana, sanidade animal e ao meio ambiente (Prestinaci; Pezzotti; Pantosti, 2015).

O atual e emergente agravamento do nível de resistência aos antimicrobianos associa-se a sua utilização exacerbada e, muitas vezes, errônea praticada ao longo de décadas. O uso indiscriminado propiciou que microrganismos conseguissem se adaptar por meio de mecanismos de aquisição e transferência de genes de resistência, causando, por conseguinte alterações nos resistomas¹ de ambientes (De Castro; De Castro; Lima, 2022).

As adaptações e alterações no resistoma antibiótico ambiental² contribuíram para a emergência e incidência de bactérias patogênicas e resistentes aos antibióticos nos mais diversos ambientes, que perpassam pelo hospitalar até o de produção animal, configurando, assim, uma iminente preocupação e ameaça para a saúde pública (Kraemer; Ramachandran; Perron, 2019).

Nesse cenário preocupante que representa a resistência antimicrobiana (RAM), a água representa não apenas um meio de dispersão de organismos resistentes aos antibióticos entre as populações humana e animal, mas, também, a via pela qual genes que conferem resistência são inseridos no ecossistema de bactérias naturais, alterando a microbiota ambiental e permitindo, assim, o surgimento de cepas multirresistentes. Logo, os ambientes aquáticos são considerados os principais reservatórios para cepas resistentes e genes de resistência a antibióticos (Resende *et al.*, 2020).

Collignon e McEwen (2019) citaram que o ambiente aquático está diretamente relacionado à abordagem de Uma Só Saúde, que se fundamenta na dependência mútua entre humanos, animais e meio ambiente, e no reconhecimento de que compartilham não apenas o mesmo ambiente, mas, também, muitas ameaças à saúde, como as doenças infecciosas causadas por microrganismos patogênicos.

A resistência antimicrobiana deve ser um assunto tratado com urgência na saúde pública, na produção animal e agrícola e, no meio ambiente. Sua prevalência põe em risco o

¹**Resistoma:** conjunto de genes responsável por conferir resistência aos antimicrobianos, antissépticos e metais pesados em um dado ecossistema microbiano (HO *et al.*, 2019).

² **Resistoma antibiótico:** O resistoma antibiótico compreende todos os elementos genéticos que podem conferir resistência aos medicamentos (De Castro; De Castro; Lima, 2022).

tratamento eficaz de infecções causadas por bactérias, fungos, vírus e parasitas, resultando em enfermidades mais prolongadas e com maior mortalidade, ao mesmo tempo em que põe em risco a sustentabilidade dos sistemas agroalimentares e, conseqüentemente, a segurança alimentar (OPAS, 2020).

Adicionalmente, diante do emprego inadequado de antimicrobianos na produção animal, e ao conseqüente tratamento ineficiente dos efluentes e dejetos oriundos das mais variadas indústrias de processamento de produtos de origem animal (POAs), emerge um alerta mundial quanto à multirresistência dentro dos sistemas de criação. Já que, dependendo da tecnificação dos sistemas produtivos, os efluentes das águas residuais da criação dos animais e indústrias processadoras, que consomem quantidades elevadas de antibióticos, constituem uma das principais fontes de genes resistentes a antibióticos (Al Salah; Laffite; Poté, 2019).

O problema acima citado é agravado, sobretudo, quando esses efluentes têm como destino final cursos d'água com população ambiental característica, tendo como efeito a troca de material genético entre as populações e a transferência e aquisição de resistência facilitada pelo ambiente aquático, por ser frequentemente e facilmente impactado por atividades antropogênicas (Marti; Variatza; Balcazar, 2014).

Em sistemas de criação de peixes, a água utilizada pode ser obtida de diversas fontes como, rios, córregos, riachos, ribeirões, açudes, reservatórios, represas, aquíferos subterrâneos entre outros que, podem conter microrganismos, inclusive os resistentes aos antimicrobianos. Diante disso, o risco da presença de bactérias multirresistentes no meio ambiente deve ser valorado e a utilização hídrica de fontes naturais potenciais para consumo e produção animal, sem tratamento prévio, constitui um problema potencial, principalmente quando realizada em populações suscetíveis, a exemplos dos peixes (Bortoloti *et al.*, 2018).

Apesar de existirem várias bactérias que infectam os peixes, algumas delas se destacam pela frequência com que ocorrem no mundo e no Brasil, entre elas estão as bactérias do gênero *Aeromonas* sp. (Leira *et al.*, 2016), microrganismos que integram o microbioma aquático e que podem infectar esses organismos aquáticos. A infecção causada por espécies desse gênero podem causar hemorragia cutânea no corpo e nadadeiras, evoluindo para ulcerações com perdas de epitélio, bem como septicemia e, em alguns casos, morte (Alyahya *et al.*, 2018).

No Brasil, para a profilaxia e tratamento das doenças bacterianas em peixes, apenas dois fármacos são regulamentados pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), o florfenicol e a oxitetraciclina, porém nenhum deles é liberado para espécies nativas (Brasil, 2011), sendo que esses fármacos muitas vezes administrados de forma errônea ou substituídos por outros não recomendados, prejudicam a sanidade animal, ambiental e saúde humana. Dessa forma, a

fitoterapia surge como uma alternativa dotada de grande potencial para prevenção e controle de patógenos nessa classe de vertebrados, bem como seu uso oferece menos impacto ao meio ambiente.

A utilização de fitoterápicos, com propriedades antimicrobianas, é uma importante opção na profilaxia e controle de patógenos nas criações em substituição ao uso de produtos químicos que, além de serem tóxicos ou não regulamentados para uso em peixes, são nocivos ao meio ambiente, geram resistência bacteriana e também podem afetar a saúde humana (Tavechio *et al.*, 2009). Além disso, os fitoterápicos oferecem diversas vantagens em relação aos antimicrobianos, em que se destaca: (i) menor toxicidade, por serem menos concentrados; (ii) apresentam múltiplos modos de ação que diminuem a probabilidade de desenvolvimento da RAM; (iii) contribuem para a redução do impacto ambiental devido à sua natureza biodegradável; e, (iv) minimizam a presença de resíduos químicos nos animais (Coimbra *et al.*, 2006).

A *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann, espécie vegetal de distribuição cosmopolita no Brasil, principalmente na bacia Amazônica, popularmente conhecida como pariri (Gemelli *et al.*, 2015), é uma planta muito utilizada na medicina popular e suas partes empregadas fitoterapeuticamente incluem as folhas e os ramos, este último com propriedades antimicrobianas e anti-helmínticas (Oliveira *et al.*, 2022).

Tendo em vista o possível comprometimento da sanidade de peixes por bactérias do gênero *Aeromonas* sp., sobretudo as espécies nativas como o *Colossoma macropomum*, a partir do surgimento de bactérias patogênicas resistentes aos antimicrobianos sintéticos, bem como a baixa quantidade de fármacos recomendáveis disponível e o risco da exposição do ecossistema aquático a essas substâncias, é necessária a descoberta de novas substâncias com potencial antimicrobiano.

2. JUSTIFICATIVA E IMPORTÂNCIA DO ESTUDO

O termo “Uma Só Saúde” representa a interconexão estabelecida entre diversos ecossistemas na disseminação e emergência de traços que influenciam a saúde humana, animal, vegetal e sua integração ambiental (Hernando-Amado *et al.*, 2019). A RAM é um dos maiores problemas associados à Uma Só Saúde por sua forte ligação com os microbiomas encontrados nos mais diversos ambientes. A transmissão ecológica do resistoma entre microrganismos se deve a três principais aspectos: o espaço onde ocorre, o veículo por onde é transmitido e a interpretação da informação transmitida pelo recipiente, isto é, a recepção do material genético

(Baquero *et al.*, 2019).

Qualquer lugar onde haja uso de antimicrobianos será considerado um reservatório de resistência. Os humanos e os animais, bem como os ambientes onde estão inseridos como as granjas e locais de aquicultura são enquadrados como peças-chaves na disseminação de resistência. Além disso, as águas, o solo e diversos outros nichos ecológicos estão sujeitos à contaminação por meio dos descartes e poluição da indústria farmacêutica e os dejetos das indústrias de produção animal (McEwen; Collignon, 2018).

Nessa perspectiva, faz-se necessária uma reflexão sobre a RAM em relação à Agenda 2030, considerando que a resistência antimicrobiana deve ser abordada não apenas como uma questão isolada de saúde, mas como uma questão de saúde integrada em um contexto social, econômico e ambiental. De acordo com Ferrinho *et al.* (2022), a “pandemia da RAM” deve ser dada a mesma atenção dispensada as outras emergências de saúde pública e pandemias, como a da Covid-19, a insegurança alimentar e nutricional e as alterações climáticas, evidenciando a importância dos sistemas sociais, dos sistemas agropecuários e da degradação ambiental.

A iniciativa dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentáveis (ODS) inclui 17 objetivos bem definidos nas dimensões da ecologia, mudanças climáticas, questões sociais, economia, educação e saúde, que estão frequentemente interligados com ações, metas e critérios de monitoramento para permitir a avaliação do progresso desses objetivos. Todas as dimensões tratadas nos ODS são importantes para enquadrar e responder adequadamente à emergência de saúde pública associada à RAM. E, ela compromete também a capacidade de alcançar muitos dos ODS (Jasovský *et al.*, 2016; Gajdács *et al.*, 2021), no entanto, a Agenda 2030 e os ODS não fazem uma única referência à RAM.

Portanto, a importância do tema proposto está inserida em um contexto de “Uma Só Saúde” que é definida como uma abordagem colaborativa, multissetorial e transdisciplinar, trabalhando em vários níveis (local, regional e global), para alcançar resultados ideais de saúde e bem-estar, reconhecendo as interconexões entre pessoas, animais, plantas e seu ambiente compartilhado. Associado a isso, há uma grande necessidade de introduzir novas alternativas ao arsenal farmacêutico quando se refere à terapêutica com o uso de antimicrobianos. Uma vez que, tem se tornado frequente, o aparecimento de cepas bacterianas cada vez mais resistentes, resultantes da utilização indiscriminada destes fármacos. Portanto, a utilidade de plantas com ação antimicrobiana tem crescido com grandes perspectivas (Veber, 2015).

Outrossim, os principais eixos desse estudo (peixes nativos X infecção bacteriana X resistência antimicrobiana X extrato vegetal fresco X atividade antimicrobiana) são tratados

conjuntamente de forma esparsa na literatura. Por isso, há a necessidade premente de desenvolver uma pesquisa sobre esta temática.

3. HIPÓTESE CIENTÍFICA DO TRABALHO

A presença de bactérias multirresistentes no meio ambiente está comprovada e elas podem atingir diferentes espécies animais, incluindo os peixes nativos, como o *Colossoma macropomum*. Na inexistência de antibióticos para o tratamento de aeromonose em peixes considera-se que o extrato fresco e frações obtidas da espécie vegetal *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann podem representar uma alternativa terapêutica promissora pelo seu efeito antimicrobiano natural, além de colaborar com a conservação de espécies nativas ameaçadas por patógenos multirresistentes e para a saúde pública.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

- Realizar a prospecção do extrato fresco e frações de pariri (*Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann) frente a *Aeromonas* patogênicas multiressistentes a antimicrobianos isoladas de tambaquis (*Colossoma macropomum*) oriundos da Ilha do Maranhão.

4.2 Objetivos Específicos

- Preparar o extrato e frações das folhas frescas de *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann.
- Quantificar compostos fenólicos e flavonoides presentes no extrato e frações das folhas frescas de *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann.
- Identificar a composição química do extrato de *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann por cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massas.
- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) frente a extratos frescos e frações de *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann.

- Avaliar a toxicidade do extrato e frações das folhas frescas de *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann.

5. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

5.1 Resistência Antimicrobiana (RAM) em Ambientes Aquáticos

O ambiente aquático é o *habitat* natural de um grande número de microrganismos, incluindo bactérias resistentes a antibióticos, e é considerado o principal receptor de antimicrobianos, bactérias resistentes e genes de resistência a antibióticos originários de atividades humanas (Marshall; Levy, 2011). Diversos fatores podem propiciar a disseminação desses genes e microrganismos, como a falta de conhecimento da população, controle ineficiente de infecções, escoamento de resíduos, ausência de saneamento básico e o tratamento inadequado – ou inexistente – da água, onde o lançamento de efluentes, bem como o lixo comum, aliado ao descarte incorreto dos medicamentos, pode contaminar não só o solo, mas também as águas de rios, lagos, oceanos e lençóis freáticos (Silva; Cardoso; Vieira, 2022; Pinto *et al.*, 2014). O uso não responsável de fármacos, juntamente com outros fatores de pressão seletiva, implica na maior frequência e dispersão de genes de resistência no ambiente e em matrizes ambientais, como o solo e as águas superficiais (Laxminarayan, 2014; Grenni; Ancova; Caracciolo, 2018; Sousa *et al.*, 2018).

A entrada de antimicrobianos e seus metabólitos no ambiente se dá por várias vias, mas, principalmente, por meio de efluentes hospitalares e águas residuais não tratadas, lodos de esgoto, descarga de resíduos municipais, atividades agropecuárias, além de efluentes dos fabricantes desses fármacos. Uma vez no ambiente, os antimicrobianos são capazes de alterar comunidades microbianas naturais responsáveis por desempenharem processos ecológicos fundamentais para manutenção da qualidade da água e do solo (Martins, 2023).

Apesar dos antibióticos estarem presentes no meio ambiente, inexistem qualquer motivação palpável por parte dos órgãos governamentais que possa fornecer informações a respeito de regulamentações futuras para essa problemática. Comparativamente, a resistência ambiental recebeu menos foco que a resistência antimicrobiana na saúde de humanos e animais, mesmo que o ambiente natural seja um importante reservatório de resistência (Grenni, 2022; UNEP, 2022).

Bactérias ambientais possuem uma grande diversidade genética e capacidade metabólica, agindo na ciclagem biogeoquímica e na degradação de contaminantes orgânicos. Antimicrobianos no ambiente podem dificultar o funcionamento e a estrutura dessas comunidades bacterianas, causando efeitos diretos e indiretos a curto e a longo prazo, agindo como bactericidas ou bacteriostáticos e causando o desaparecimento de algumas populações microbianas e seu funcionamento ecológico (Grenni, 2022).

Vários grupos de pesquisa têm demonstrado que bactérias ambientais, especialmente aquelas coletadas ou isoladas do solo, contêm uma importante diversidade de genes de resistência, alguns semelhantes aos genes detectados em bactérias patogênicas (Hu; Gao; Zhu, 2017). Neste contexto, surgiu o conceito de 'resistoma', que compreende o conjunto de todos os genes que contribuem direta ou indiretamente para a resistência a antibióticos em bactérias do ambiente, bem como em patógenos de importância clínica (Perry; Wright, 2013).

5.1.1 Modos de Disseminação de Genes de Resistência

Os modos de disseminação de genes de resistência a medicamentos em patógenos podem ser realizados tanto por transferência genética vertical (VGT) quanto por transferência genética horizontal (HGT) (Stevenson *et al.*, 2017). A VGT é transmitida ao longo das gerações bacterianas. Durante o processo de divisão binária/cissiparidade, o gene de resistência a medicamentos é transmitido da célula mãe para as células filhas (Li *et al.*, 2019). Já, a HGT quebra os limites de parentesco em comparação com a VGT, permitindo a troca de genes entre diferentes espécies (Paquola *et al.*, 2018). Foi demonstrado que esse último processo de resistência bacteriana a medicamentos desempenha importante papel na evolução e disseminação da resistência a múltiplos medicamentos (Lerminiaux; Cameron, 2019).

A HGT pode acontecer na reprodução sexuada das bactérias (transformação³, transdução⁴ e conjugação⁵), mas, a conjugação é o modo mais importante (Arnold; Huang; Hanage, 2021). Os elementos genéticos móveis (MGEs) compartilharam seus elementos

³Processo de reprodução sexuada em que as bactérias absorvem fragmentos de DNA livre no ambiente e os incorporam ao seu próprio genoma.

⁴ Processo de reprodução sexuada em que os bacteriófagos ao infectarem bactérias podem transportar material genético de uma bactéria para outra.

⁵ Processo de reprodução sexuada em que duas bactérias se conectam por meio de uma ponte citoplasmática (pili sexual) e trocam material genético.

genéticos de resistência com outras espécies bacterianas não resistentes via HGT, o que promoveu o acúmulo e a disseminação de genes de resistência a antibióticos em bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (Koonin; Makarova, 2017; Zheng; Yin; Liu, 2021). Quando os genes de resistência a medicamentos em bactérias se acumulam até certo ponto, é possível formar superbactérias altamente patogênicas, resistentes à maioria dos antimicrobianos.

A RAM é definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como a habilidade dos microrganismos (bactérias, fungos, vírus e parasitas) mudarem algumas estruturas quando expostos a antimicrobianos e assim, resistir a esses medicamentos, tornando-os ineficientes. Na atualidade, é considerada como um dos maiores problemas de saúde pública em âmbito global, onde estima-se que 1,27 milhões de mortes no mundo no ano de 2019 sejam atribuídas à resistência antimicrobiana (Murray *et al.*, 2022). Portanto, essa é uma questão atual e inserida nas pautas de “Uma Só Saúde”, visto o importante impacto na saúde humana, animal e meio ambiente e as inter-relações entre eles. Segundo o relatório sobre resistência bacteriana publicado pela OMS, trata-se não mais de uma ameaça global à saúde pública, mas sim de uma realidade alarmante, presente em todos os países, numa “era pós-antibiótica” onde infecções comuns e pequenos ferimentos, anteriormente tratáveis com facilidade, podem voltar a matar (WHO, 2023).

Em um contexto atual, considera-se que expressivo aumento da população mundial tem impactado na demanda por alimentos, sendo combustível para a intensificação da produção animal, criando, dessa forma, ambiente favorável à disseminação de doenças infecciosas, convergindo, inclusive, na ampliação do uso de antimicrobianos de forma terapêutica ou até mesmo profilática (Silva *et al.*, 2020). Paralelamente, o uso de antibióticos promotores de crescimento como aditivos na nutrição de animais de produção tem sido assunto polêmico, por serem utilizados em subdoses terapêuticas, de forma a potencializarem a RAM (Cortez *et al.*, 2006), principalmente ao considerar a presença de resíduos em produtos que são destinados ao consumo humano. Assim, apesar da multicausalidade atrelada à RAM, acredita-se que o uso de antibióticos nas explorações agrícolas e produção animal seja um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento da resistência antimicrobiana. Nesse ínterim, destaca-se a piscicultura, atividade agropecuária que cresce anos após ano, tanto em volume como em valor de produção.

5.2 *Colossoma macropomum* (Tambaqui)

O tambaqui, *Colossoma macropomum*, é um peixe de água doce, nativo da Região

Amazônica, cujo tamanho pode chegar até um metro de comprimento e um total de 30 kg de peso corporal, em ambiente natural (Gouding; Carvalho, 1982). Ele é o segundo maior peixe de escamas nas águas sul-americanas, atrás apenas do pirarucu (*Arapaima gigas*) (FISHBASE, 2010).

Figura 1. Tambaqui (*Colossoma macropomum*)



Fonte: Portal Amazônia (2021).

O *C. macropomum* possui lábios carnosos, dentes molares afiados e fortes. Esta característica anatômica e fisiológica permite o hábito alimentar do tipo onívoro e as preferências dietéticas da espécie perpassam pelo zooplâncton às sementes e frutas, conforme a fase de desenvolvimento. Em função do modo alimentar, atua como dispersor de sementes durante os períodos de cheia na Bacia Amazônica, podendo excretar sementes a distâncias de até 5,5km da árvore-mãe (Milius, 2011).

A idade média em que o tambaqui atinge a maturidade sexual é de três a quatro anos. O tambaqui é um peixe reofilico, portanto não desova naturalmente em cativeiro. Peixes dessa natureza precisam vencer as correntezas dos cursos de água para maturar as suas gônadas (Proença; Bittencourt, 1994). Na região Nordeste, a reprodução do tambaqui ocorre nos meses de outubro a março, sendo observada uma maior concentração das desovas no período de novembro a fevereiro (Kubitza; Kubitza, 2004).

No contexto do Maranhão, o estado desponta como um centro promissor na produção de peixes cultivados, ocupando a sexta posição no *ranking* brasileiro, atrás tão somente dos estados do Paraná (213.300 toneladas - t), São Paulo (82.400 t), Minas Gerais (61.600 t), Rondônia (56.500 t) e Santa Catarina (56.100 t). Foram produzidos no Estado, em 2023, 49.153 toneladas (t) de peixes, das quais 38.343 t eram de peixes nativos (tambaqui, tambatinga,

curimatá, piau e matrinxã); 5.800 t de carpas, trutas e pangasius; e, 5.010 t de tilápia (Peixe BR, 2024).

Referente a ocorrência de doenças em peixes, condições ambientais extremas, idade e estresse são fatores determinantes. Os animais jovens são os mais suscetíveis aos agentes etiológicos, por não maturidade do sistema imunológico adaptativo. O estresse comumente causado por manejo inadequado, alta densidade, alimentação e nutrição não adequados, ou uma combinação destes fatores também aumentam muito as probabilidades de ocorrência das enfermidades (Lima; Goulding, 1998).

Entre os principais agentes causadores de doenças na piscicultura comercial, as bactérias emergiram com alvo de preocupação nos últimos vinte anos. Isso se deve não apenas aos grandes prejuízos econômicos que causam na produção, mas também ao fato de que algumas espécies são zoonóticas para seres humanos e/ou apresentam resistência aos antibióticos empregados atualmente (Chideroli *et al.*, 2017).

5.3 Gênero *Aeromonas* sp.

Bactérias do gênero *Aeromonas* são microrganismos comuns de ambientes aquáticos, que podem causar infecções em humanos e animais. Também foi demonstrado que elas podem desenvolver e disseminar resistência a antibióticos em cenários clínicos e ambientais (Do; Murphy; Walsh, 2017).

Aeromonas sp. são bastonetes Gram-negativos, de vida livre, anaeróbios facultativos, sendo anteriormente classificados, juntamente, com *Vibrio* sp. e *Plesiomonas shigelloides* na família Vibrionaceae. Porém, estudos genéticos evidenciaram a necessidade de sua reclassificação em uma família própria, já que elas apresentam características filogenéticas distintas daquelas encontradas na família Vibrionaceae. Portanto, *Aeromonas* sp. está classificada taxonomicamente na família Aeromonadaceae (Ghenghesh *et al.*, 2008).

Para os peixes, *Aeromonas* sp. são consideradas microrganismos oportunistas, ou seja, organismos patogênicos facultativos que se manifestam em hospedeiros debilitados e infectados por outros agentes etiológicos, sendo considerados invasores secundários, estabelecendo-se ao concomitantemente a outras infecções bacterianas, virais, parasitárias ou em decorrências de problemas nutricionais ou de estresse (Pavanelli; Eiras; Takemoto, 2008). Cinco são as espécies de importância clínica, *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. veronii* e *A. schubertii*, que já foram isoladas de répteis, anfíbios, peixes e de algumas aves.

Essas bactérias são catalase e oxidase positivas, capazes de fermentar glicose e gelatina líquida e incapazes de fermentar inositol. São descritas como anaeróbias facultativas e podem tolerar concentrações elevadas de cloreto de sódio (0,3 – 5 %) (Percival; Williams, 2014). Podem produzir uma grande variedade de enzimas hidrolíticas extracelulares, como arilamidases, esterases, amilases, elastases, desoxirribonucleases, quitinases, peptidases e lipases (Igbiosa *et al.*, 2012). Apresentam faixa de temperatura ótima de crescimento que varia de 22 a 35 °C e podem resistir a faixas de pH de 4,5 a 9 (Lowry *et al.*, 2014).

Com base nas características de motilidade e temperatura de multiplicação, dois grupos de espécies podem ser diferenciados no gênero *Aeromonas* (Martin-Carnahan; Joseph, 2005): (i) grupo mesofílico e móvel – com temperatura de desenvolvimento que varia de 35 a 37°C, sendo composto pelas espécies *A. hydrophila*, *A. caviae* e *A. sobria*; e, (ii) imóveis e psicrófilas – apresentam temperatura ótima de crescimento entre 22 a 25 °C, tendo como representantes *A. salmonicida* e *A. media* (Popoff, 1984; Holmes; Niccolls; Sartory, 1996; Janda; Abbott, 2010).

A atenção mundial sobre os membros do gênero *Aeromonas* aumentou consideravelmente nos últimos anos, em decorrência das taxas significativas de mortalidade provocadas nos peixes e das consequentes perdas econômicas associadas os surtos (Lazado; Zilberg, 2018; Hossain; Heo, 2021). Para os peixes criados em viveiros ou em sistemas com recirculação de água, os integrantes do grupo de *Aeromonas* móveis são os principais patógenos incriminados em surtos de doenças (John; Hatha, 2013; Hossain; Heo, 2021).

Do gênero *Aeromonas* sp., destacam-se as espécies mesófilas, principalmente *A. hydrophila* que já foi associada a alta mortalidade em diversas espécies de peixes determinando perdas econômicas, mundialmente (Janda; Abbott, 2010). Mas, outras espécies de *Aeromonas* sp. ganharam notoriedade nos últimos anos, é o caso da *A. veronii*, que causa septicemia desencadeando grandes perdas anualmente, com mortalidade cumulativa variando de 10 a 100 % (Dong *et al.*, 2017). Outro ponto a ser citado é que essas bactérias apresentam amplo espectro de hospedeiros, como humanos, anfíbios e outros organismos aquáticos (Martin; Fasolato; Cardazzo, 2016).

De forma geral, as espécies de *Aeromonas* sp. são sensíveis à tetraciclina, gentamicina, cloranfenicol, sulfonamidas, amicacina, nitrofurantoína, tobramicina e cefalosporina de terceira geração e apresentam-se resistentes à penicilina, ampicilina, carbenicilina, eritromicina e vancomicina (Altwegg, 1999). A utilização indevida e indiscriminada de antibióticos tem contribuído para o surgimento de cepas resistentes, impactando tanto o ecossistema quanto a saúde e segurança da população em geral (Silva *et al.*, 2022).

Frente a situação acima citada, produtos naturais são excelentes alternativas para serem utilizadas em substituição ou em sinergismo com os antimicrobianos, visando estabelecer protocolos adequados para o tratamento de doenças bacterianas nessa classe de vertebrados (Souza *et al.*, 2017).

5.4 *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann

A *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann é conhecida, popularmente, no Brasil como pariri, carajiru, carajunu, cajuru, piranga, paripari, oajuru-piranga, oajuru, guarajuru, guarajuru-piranga, cuica, cipó-pau, cipó-cruz, coá-piranga, chica, china, entre outros (Côrrea, 1984; Pauletti, 2003; Lohmann, 2015). A *F. chica* foi descrita pela primeira vez como *Arrabidaea chica* da divisão Mannoliophyta, classe Magnoliopsida, subclasse Asteridae, ordem Scrophulariales, família Bignoniaceae e gênero *Arrabidaea*, porém houve algumas mudanças taxonômicas incluindo várias espécies do gênero *Arrabidaea* no gênero *Fridericia* (Lohmann, 2015). Com essas mudanças, a espécie foi incluída na família Bignoniaceae (Machado; Romero, 2014).

Há registros de ocorrência *F. chica* no continente Africano e em toda América do Sul. No Brasil, já foram registrados 27 gêneros e 170 espécies integrantes da família Bignoniaceae (Machado; Romero, 2014), incluindo a *F. chica*.

A espécie *F. chica* é uma planta arbustiva trepadeira, de ramos subtetragonos⁶ podendo alcançar até 2,5 metros de altura. Suas folhas são tradicionalmente utilizadas por indígenas da região Norte brasileira, como corante para pinturas corporais, tingimento de fibras artesanais, repelente e protetor solar (Nascimento, 2016).

5.4.1 Potencial bioativo e fitoquímico de *Fridericia chica*

De acordo com Rocha *et al.* (2019) e Vasconcelos *et al.* (2021), a partir da planta *F. chica*, pode-se isolar níveis variados de flavonoides e antocianinas, além de metabólitos secundários, como antocianinas, antraquinona, catequinas, ácidos orgânicos, açúcares redutores, esteroides, xantanas e taninos. A presença dessas substâncias na planta apresenta o

⁶Ramos que possuem secção transversal com quatro ângulos, mas não, necessariamente, formando um quadrado perfeito.

papel de auxiliar no crescimento e desenvolvimento, proteção contra radiações ultravioleta (UV), dispersão de sementes e, promoção da polinização, além de ser um mecanismo de defesa (Buer; Imin; Djordjevic, 2010).

Para Siqueira *et al.* (2022), a identificação de flavonoides, antocianinas e metabólitos secundários têm permitido, com a execução de estudos, que seja comprovada as propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antifúngicas e antiparasitárias dessa espécie vegetal, notadamente de suas folhas.

A espécie *F. chica* é utilizada na medicina tradicional como agente anti-inflamatório, o que foi confirmado em diversos estudos com diferentes extratos preparados a partir das folhas desta planta (Zorn *et al.*, 2001; Oliveira *et al.*, 2009; Michel *et al.*, 2015). Após alguns estudos realizados com os extratos das folhas da *F. chica*, observou-se que as 3-desoxiantocianidinas identificadas na espécie são as principais responsáveis pela sua atividade anti-inflamatória (Batalha *et al.*, 2022). Ribeiro *et al.* (2009) testaram o extrato etanólico fresco de *F. chica* e observaram atividade antibacteriana contra isolados de *Staphylococcus aureus* e antifúngica frente à levedura *Candida albicans*.

As folhas de *F. chica* possuem alto teor de flavonas e presença de apigenina, dotadas de atividade antioxidante (Siraichi *et al.*, 2013; Fidelis *et al.*, 2019). Outras flavonas identificadas no extrato das folhas dessa espécie, são a escutelarina e escutelareína, presentes, também em outras plantas medicinais como *Scutellaria barbata* e *S. lateriflora*. A escutelarina é uma forma glicoronídica da escutelareína, o que significa que, embora ambas as moléculas apresentem atividade antioxidante, a forma aglicona (escutelareína) tem uma atividade mais forte (Liu *et al.*, 2018).

6. METODOLOGIA

6.1. Material Vegetal

Foram utilizadas folhas de *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann (pariri) (Figura 2), coletadas de plantas adultas no período chuvoso, turno da manhã, horário em que há maior concentração dos compostos fenólicos (Baskar; Venkatesh; Ramalingam, 2018). A coleta foi realizada no município de São Luís, estado do Maranhão, Brasil, sob as coordenadas 2°35'21.8"S 44°12'19.1"W.

Figura 2. Amostra de *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann (pariri) coletada no município de São Luís, estado do Maranhão



Fonte: Arquivo do autor (2025).

A exsicata da planta foi depositada no Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) e encontra-se registrada sob o número 01067.

6.2 Preparo do Extrato Fresco e Frações de *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann.

Após coletadas, as folhas de *F. chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann foram lavadas e, posteriormente separadas e moídas em moinhos de facas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água (LMAA) da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA).

O material vegetal foi submetido aos seguintes processos extrativos: (i) utilização de 70 gramas (g) das folhas de *F. chica* moídas para 700 mL de etanol a 70 %; (ii) maceração por sete dias, com homogeneização diária; (iii) o extrato fresco foi rota-evaporado em temperatura de 40 °C e liofilizado; e, (iv) após rota-evaporação do solvente, foram suspensos 10 g do extrato fresco em 100 mL de água destilada, seguido da partição líquido/líquido (Figura 3) com solventes orgânicos (hexano, diclorometano, acetato de etila), no sentido do mais apolar para o mais polar – que foi conduzida no Laboratório de Microbiologia do Programa de Controle de Alimentos e Água da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). A obtenção do extrato e o

fracionamento foram realizados em ambiente sem luminosidade e temperatura controlada para evitar alteração química dos metabólitos secundários.

Figura 3. Partição líquido-líquido das frações de *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohnmann



Fonte: Arquivo do autor, 2025.

Após a separação das frações foi realizada a análise de rendimento do extrato e frações, de acordo com as equações abaixo discriminadas:

$$\text{Eq. 1: } \text{Massa total} = \frac{\text{Massa em 1mL} \times \text{Volume do filtrado}}{1 \text{ mL}}$$

$$\text{Eq. 2: } \text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Massa total} \times 100}{\text{Massa do material utilizado na marceração ou partição}}$$

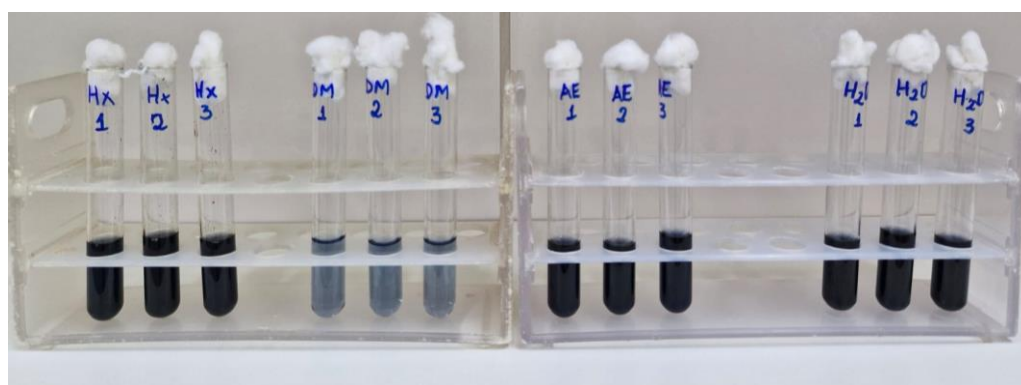
O extrato e suas frações foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) 1% para realização das atividades farmacológicas.

6.3 Quantificação de Compostos Fenólicos e Flavonoides Totais

A determinação dos compostos fenólicos totais dos extratos frescos e frações de *F. chica* (Figura 4) ocorreu pelo método de Folin-Ciocalteu, fundamentado nos procedimentos descritos por Waterhouse (2012). A determinação de flavonóides totais foi realizada por regressão linear

com comparação da curva padrão de quercetina nas concentrações de 5 a 50 µg/mL. Na sequência, foi preparada a solução de 2 mL de cloreto de alumínio a 2% (m/v) em 2 mL do extrato fresco e mantidos em ambiente escuro por 10 minutos. Após esse tempo, procedeu-se a leitura das amostras com a utilização de espectrofotômetro na absorbância (Abs) de 425 nanômetros (nm), contra uma solução de 2 mL de água purificada com 2 mL de cloreto de alumínio 2% (branco). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Figura 4. Determinação dos compostos fenólicos totais das frações de *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohnmann



Fonte: Arquivo do autor (2025).

6.4 Análise em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de Extrato Fresco de *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohnmann

Foi preparada uma solução estoque do extrato em metanol que foi analisada por infusão direta no espectrômetro de massas Impact Bruker, utilizando ionização por electrospray no modo ESI positivo. As condições da fonte foram: nebulizer ajustado a 12 psi; fluxo de dry gas de 4 L/min, temperatura de 180 °C; e, tensão de alta voltagem (HV) de 4500 V aplicada ao capilar. Após estabilização do spray, iniciou-se a aquisição contínua dos sinais, permitindo a detecção direta dos íons presentes na amostra sem uso de etapa cromatográfica. Foram obtidos espectros em Full Scan nos dois modos de polaridade, possibilitando a observação de íons moleculares, adutos e padrões isotópicos relevantes. As informações registradas foram processadas no software Bruker. A análise de Infusão direta no espectrômetro de massas foi realizada na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP).

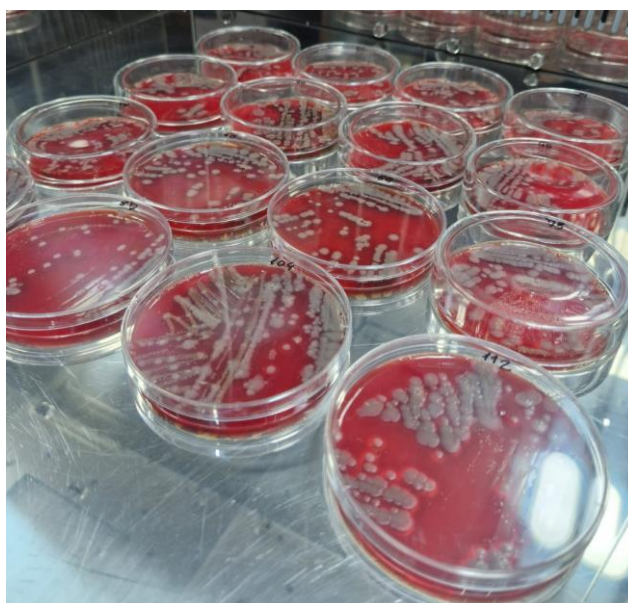
6.5 Isolados Bacterianos de *Aeromonas* sp.

Foram utilizados no estudo 54 isolados bacterianos integrantes da bacterioteca do Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, confirmadas para o gênero *Aeromonas* sp. por testes fenotípicos e molecular (nível de gênero), alguns com a confirmação molecular da presença de genes codificadores de fatores de virulência (aerolissina - aerA e enterotoxina citotóxica – act) e, multirresistentes a antibióticos de uso comercial. Também foram utilizados os isolados bacterianos de *Aeromonas* móveis provenientes da “*American Type Culture Collection*” (ATCC), para garantir a padronização dos resultados científicos.

Os isolados bacterianos foram oriundos de fragmentos renais e hepáticos de *Colossoma macropomum* ($36,6 \pm 4,32$ cm e $998 \pm 248,30$ gramas) criados em propriedades rurais da Ilha do Maranhão que apresentavam características semelhantes entre si: (i) mesmo sistema de cultivo (semi-intensivos em viveiros escavados); (ii) utilização de ração comercial balanceada e do tipo extrusada; e, (iii) criação de tambaqui como espécie principal.

Antes da realização dos ensaios antimicrobianos, os isolados bacterianos foram submetidos à purificação em ágar sangue⁷ (Figura 5), a fim de garantir culturas viáveis e livres de contaminação, assegurando a confiabilidade dos resultados obtidos nos testes subsequentes.

Figura 5. Purificação dos isolados de *Aeromonas* sp. em Ágar Sangue



Fonte: Arquivo do autor (2025).

⁷ Ágar base sangue suplementado com 5 % de sangue desfibrinado de caprino.

6.5.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A suspensão bacteriana foi padronizada adicionando uma cultura bacteriana de 24 horas de cultivo, em um tubo contendo solução salina estéril com turvação igual à suspensão do tubo 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC⁸/mL), verificado pela leitura espectrofotométrica a 600 nm e a absorbância de 0,10 nm a 0,15 nm. Foi utilizado como controle positivo, o antimicrobiano gentamicina. O extrato e frações vegetais foram preparados em solução-estoque de Caldo Mueller Hinton com 0,1 % de DMSO, nas seguintes concentrações: 10000 µg/mL para o extrato fresco, fração hexânica e fração aquosa; 1000 µg/mL para a fração diclorometânica e 250 µg/mL para a fração acetato etílico.

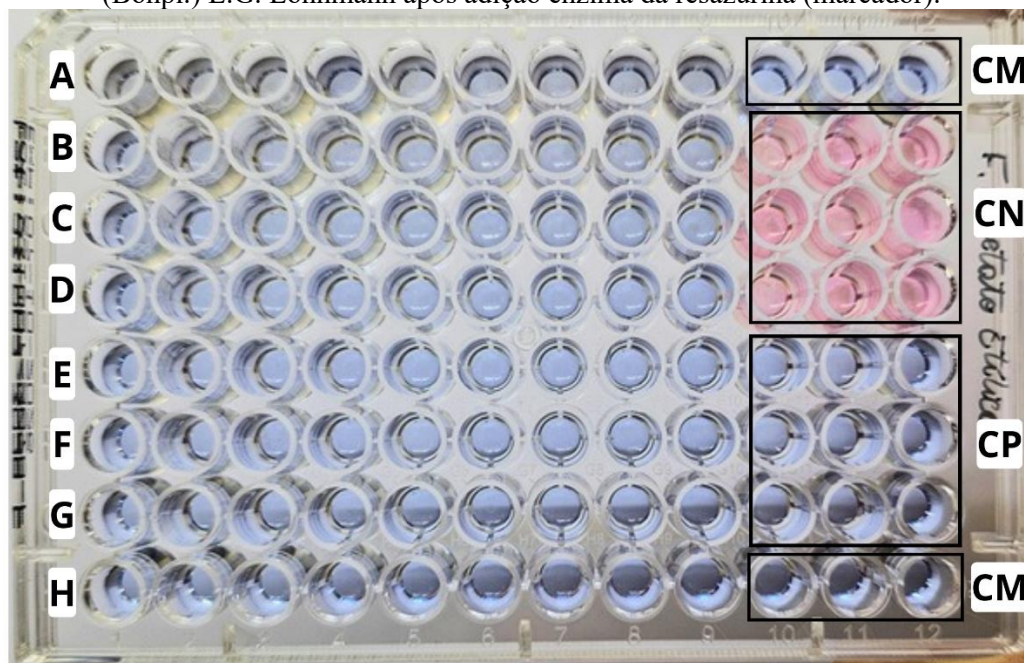
Em uma microplaca estéril de 96 poços, foram depositados 100 µL de Caldo Mueller Hinton nos poços das linhas B a H e nas colunas 1 a 9, bem como nas linhas A e H, nos poços de 10 a 12 (controle negativo). Nos poços das linhas de B a D nas colunas de 10 a 12 foram adicionados 100µL de Caldo Mueller–Hinton (controle negativo). E nos poços das linhas E à G da coluna 10 a 12 foram adicionados 100µL de gentamicina.

Os poços da linha A de 1 a 9 receberam 200 µL das soluções-estoque dos extratos vegetais. Após a homogeneização, 100 µL das misturas contidas nos poços da linha A de 1 a 9 foram transferidos para a linha B de 1 a 9 e assim sucessivamente até a linha H de 1 a 9, que após homogeneização, tiveram o mesmo volume retirado e desprezado (100 µL). Por último, foram adicionados em todos os poços da microplaca, com exceção da linhas A e H de 10 a 12, 10 µL da suspensão bacteriana. Dessa maneira foi obtido um volume final de 110 µL em cada poço. Logo após, a placa foi incubada por 24 horas à 28 °C, temperatura ótima para o crescimento de *Aeromonas* sp.

Após 24 horas de incubação foram acrescentados 30 µL de uma solução de resazurina estéril nos poços (Figura 6), seguida da incubação da microplaca a 37 °C por duas horas.

⁸ Unidade Formadora de Colônia.

Figura 6. Concentração Inibitória Mínima (CIM) da fração Acetato de Etila de *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohnmann após adição enzima da resazurina (marcador).



Onde: CM = controle do meio, CP = controle positivo e CN = controle negativo
 Fonte: Arquivo do autor (2025).

Após essa etapa, foi realizada a leitura visual final: (i) coloração azul nos poços - ausência de crescimento bacteriano; e, (ii) desenvolvimento de cor rosa - presença de crescimento bacteriano (Figura 6). A CIM foi definida como a menor concentração de extrato vegetal capaz de inibir o crescimento de 90 % das cepas bacterianas testadas, ou seja, a menor concentração de extrato vegetal capaz de impedir a mudança de cor de azul para rosa.

6.5.2 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

A determinação da Concentração Bactericida Mínima⁹ (CBM) foi realizada pelo método de *spread plate* (Baron; Peterson; Finegold, 1994). Essa técnica consiste na semeadura de inóculo microbiano na superfície do Ágar Padrão para Contagem Count (PCA).

De forma asséptica, foi semeado o inóculo (10 µL) obtido dos poços das microplacas usadas para determinação da CIM, com ausência de crescimento bacteriano (coloração azul nos pocos da placa) (Figura 6). Após incubação a 35 °C por 24 horas, foi feita a contagem das

⁹Corresponde a menor concentração necessária para inviabilizar a célula microbiana, ou seja, provocar danos irreversíveis a bactéria, expressa em µg/mL, que produz a morte de 99,9 % das células microbianas avaliadas.

colônias crescidas na superfície do ágar PCA, considerando os seguintes critérios: (i) ausência de crescimento do microrganismo no meio de cultura ou detecção de crescimento de até 20 UFC = ação bactericida; e, (ii) crescimento do microrganismo no meio de cultura acima de 20 UFC (> 20 UFC) = ação bacteriostática. O surgimento de colônias em uma concentração indica que a mesma não conseguiu inibir ou eliminar 99,9 % ou mais do inóculo utilizado.

6.6 Teste de Toxicidade com Larvas de *Tenebrio molitor*

Foram utilizadas larvas de *Tenebrio molitor* em estágio final de crescimento (pré-pupa), adquiridas na Biofábrica de Insetos da UEMA. As larvas foram padronizadas por peso, variando entre 100 e 200 mg, sendo distribuídas em placas de Petri em 12 grupos, cada um constituído por 10 larvas, totalizando 120 organismos. Desses grupos, nove foram designados como grupos teste e três como grupos controle – constituídos por: (i) controle limpo (larvas e ração); (ii) controle branco (H_2O estéril); e, (iii) controle Sham (a larva foi apenas furada pela agulha).

Nos nove grupos teste foram injetados, com auxílio de seringa de insulina (30 UI¹⁰), 10 μ L da solução do extrato fresco (concentrações 100, 40 e 2,5 μ g/mL), fração diclorometânica (concentrações 100, 40 e 2,5 μ g/mL) e fração acetato de etila (concentrações 100, 40 e 2,5 μ g/mL), com a agulha introduzida uma única vez na larva (Figura 7).

Figura 7. Teste de toxicidade aguda em larvas de *Tenebrio molitor*.



Fonte: Arquivo do autor (2025).

¹⁰ Unidades internacionais.

Na sequência, as larvas foram mantidas em ambiente controlado, no Laboratório de Entomologia Profa. Iraci Paiva Coelho – UEMA e alimentadas com uma mistura de aveia e farinha de milho flocada na proporção 2:2:2 (em peso). A taxa de sobrevivência foi avaliada a cada 24 horas, durante sete dias consecutivos e, a mortalidade determinada com base na presença de melanização e ausência de resposta a estímulos físicos.

6.7 Análise Estatística

Os dados foram analisados empregando-se o *software* GraphPad Prism 7. Para dados que apresentarem distribuição paramétrica foi utilizada a análise de variância (ANOVA), seguida pelo Teste de Tukey. Para dados com distribuição não paramétrica foi utilizado o teste Kruskal-Wallis, seguido pelo Teste de Dunns. Em todas as análises, as diferenças significativas foram consideradas quando o valor de $P \leq 5 \%$.

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados desta dissertação foram organizados em dois (2) capítulos:

- **Capítulo 1:** é apresentado o artigo intitulado “**ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF FRESH EXTRACT AND FRACTIONS OF *Fridericia chica* (BIGNONIACEAE) AGAINST MULTI-DRUG RESISTANT PATHOGENIC *Aeromonas* ISOLATED FROM *Colossoma macropomum***”, submetido à revista Brazilian Journal of Biology.
- **Capítulo 2:** consta o guia orientativo intitulado “**BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES EM AMBIENTES AQUÁTICOS E RISCOS PARA A SAÚDE ÚNICA**” publicado pela editora EDUEMA, ISBN digital 978-85-8227-596-2.

7.1 Capítulo 1

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF FRESH EXTRACT AND FRACTIONS OF *Fridericia chica* (BIGNONIACEAE) AGAINST MULTI-DRUG RESISTANT PATHOGENIC *Aeromonas* ISOLATED FROM *Colossoma macropomum*

V. M. da S. Monteiro¹, N. F. Campos¹, V. V. Rodrigues², J. C. C. Mendes², G. J. Pereira³, A.

R. de A. Silva⁴, V. C. S. Coimbra^{2,4}, D. C. Bezerra⁴, A. M. Teles⁴, N. P. C. Bezerra^{1,2,3,4*}

¹ Graduate Program in Ecology and Biodiversity Conservation at the State University of Maranhão. Campus Paulo VI, Av. Lourenço Vieira da Silva, 1000, Jardim São Cristóvão, São Luís, MA, Brazil. (VMSM) ORCID <https://orcid.org/0000-0002-7516-5139>; (NFC) ORCID <https://orcid.org/0009-0007-1651-0100>; (NPCB) <https://orcid.org/0000-0003-3970-7524>.

² Graduate Program in Animal Production at the State University of Maranhão. Campus Paulo VI, Av. Lourenço Vieira da Silva, 1000, Jardim São Cristóvão, São Luís, MA, Brazil. (VVR) ORCID <https://orcid.org/0000-0002-4589-2570>; (JCCM) <https://orcid.org/0000-0002-1510-9485>; (VCSC) ORCID <https://orcid.org/0000-0001-7611-6673>; (DCB) ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2075-9914>.

³ Graduate Program in Animal Science at the State University of Maranhão. Campus Paulo VI, Av. Lourenço Vieira da Silva, 1000, Jardim São Cristóvão, São Luís, MA, Brazil. (GJP) ORCID <https://orcid.org/0000-0002-5557-4998>.

⁴ Professional Graduate Program in Animal Health Defense at the State University of Maranhão. Campus Paulo VI, Av. Lourenço Vieira da Silva, 1000, Jardim São Cristóvão, São Luís, MA, Brazil. (ARAS) ORCID <https://orcid.org/0000-0002-6603-8824>; (AMT) ORCID <https://orcid.org/0000-0002-5068-4696>.

*Corresponding author: Nancyleni Pinto Chaves Bezerra. State University of Maranhão - UEMA. Campus Paulo VI, Av. Lourenço Vieira da Silva, 1000, Jardim São Cristóvão, São Luís, MA, Brazil. E-mail: nancylenichaves@hotmail.com

Keywords: *Aeromonas*. Bacterial resistance. Aquatic ecosystems. Bioprospecting.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Fridericia chica* AGAINST *Aeromonas*

RESUMO

This study aimed to evaluate antimicrobial activity of fresh extract and fractions from pariri (*Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann) against multidrug-resistant pathogenic *Aeromonas* isolated from tambaqui (*Colossoma macropomum*) collected on Ilha do Maranhão. A total of 54 bacterial isolates obtained from *C. macropomum*, confirmed as belonging to genus *Aeromonas* by phenotypic and molecular analyses and classified as multidrug resistant to commercially used antibiotics, were included. Fresh leaves of *F. chica* were subjected to maceration, followed by rotary evaporation, lyophilization, and liquid–liquid partitioning to obtain crude extract and fractions (hexane, dichloromethane, ethyl acetate, and aqueous). Total phenolic and flavonoid contents in extract and fractions were determined using Folin–Ciocalteu assay and quantified by linear regression, with absorbance measured using a spectrophotometer. Chemical profiling of fresh extract was performed by direct infusion mass spectrometry. Antimicrobial activity of extract and fractions was assessed by determining minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). MIC values were obtained using microdilution method with resazurin as a viability indicator, whereas MBC values were determined by agar plate count using spread-plate technique. Gentamicin served as a positive control in both assays. Toxicity was evaluated *in vivo* using 120 *Tenebrio molitor* larvae exposed to extract and fractions. Fresh extract (3172 ± 1.90) and ethyl acetate fraction (2605 ± 1.65) exhibited highest levels of total phenolics and flavonoids. Mass spectrometric analysis of fresh extract identified carajurone (m/z 285.0723) and carajurin (m/z 299.0876) as major compounds. Ethyl acetate fraction showed strongest antimicrobial activity, with MIC of $1.95 \mu\text{g mL}^{-1}$, followed by dichloromethane fraction, with MIC values ranging from 15.62 to $31.25 \mu\text{g mL}^{-1}$. Fresh extract displayed MIC values ranging from 39.06 to $10,000 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Gentamicin exhibited MIC and MBC values between 3.12 and 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Extract and fractions of *F. chica* showed low toxicity to *T. molitor*, with 100% survival in control groups and only slight reduction in survival at highest concentration tested for dichloromethane fraction. Overall, ethyl acetate and dichloromethane fractions of *F. chica* demonstrated moderate to strong antimicrobial activity against multidrug-resistant *Aeromonas* spp. isolated from *C. macropomum*.

Keywords: *Aeromonas*. Bacterial resistance. Aquatic ecosystems. Bioprospecting.

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO EXTRATO FRESCO E FRAÇÕES DE
Fridericia chica (BIGNONIACEAE) FRENTE A *Aeromonas* PATOGÊNICAS
MULTIRRESISTENTES A ANTIMICROBIANOS ISOLADAS DE *Colossoma*
macropomum

RESUMO

Objetivou-se avaliar o potencial antimicrobiano do extrato fresco e frações de pariri (*Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann) frente a *Aeromonas* patogênicas multiressistentes a antimicrobianos isoladas de tambaquis (*Colossoma macropomum*) oriundos da Ilha do Maranhão. Para isso, foram utilizadas 54 isolados bacterianos oriundos de *C. macropomum*, confirmadas para o gênero *Aeromonas* sp. por testes fenotípicos e molecular e, multirresistentes a antibióticos de uso comercial. Para a avaliação do perfil antimicrobiano foi preparado o extrato e as frações (hexânica, diclorometânica, acetato de etila e aquosa) da folha fresca de *F. chica* pelos processos extrativos de maceração, rotoevaporação, liofilização e partição líquido-líquido. A determinação de fenólicos totais e flavonoides do extrato e frações ocorreu pelo método de Folin-Ciocalteu e regressão linear e a leitura foi realizada em espectrofotômetro e a determinação dos espectros de massa do extrato fresco foi realizada por infusão direta em espectrômetro de massas. O teste da atividade antimicrobiana dos isolados foi realizado com o

extrato fresco e frações sendo determinada a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM). Para a CIM, foi utilizada a resazurina como marcador para verificação da viabilidade bacteriana pelo método de diluição em microplacas e, para o CBM realizou-se o método *spread-plate* com o ágar plate count. A gentamicina foi utilizada como controle positivo tanto no CIM como no CBM. Para a avaliação da toxicidade, foi realizado o teste in vivo do extrato e suas frações, com 120 larvas de *Tenebrio molitor*. O extrato fresco ($3172 \pm 1,90$) e a fração de acetato de etila ($2605 \pm 1,65$) exibiram os maiores teores de fenólicos totais e de flavonoides totais. Na análise química do extrato fresco, foram identificados os compostos químicos Carajurona (m/z 285,0723) e Carajurina (m/z 299,0876). Quanto à CIM, a fração acetato de etila ($1,95 \mu\text{g/mL}$) e diclorometânica ($15,62$ a $31,25 \mu\text{g/mL}$) apresentaram melhor desempenho para inibir o crescimento dos 54 isolados, seguido do extrato fresco ($39,06$ a $10000 \mu\text{g/mL}$). A gentamicina apresentou na CIM e CBM, atividade antimicrobiana semelhante, variando de $3,12$ a $25 \mu\text{g/mL}$. O extrato e frações de *Fridericia chica* apresentaram baixa toxicidade em *T. molitor*, com 100 % de sobrevivência nos controles e baixa redução da taxa de sobrevivência, apenas na maior concentração testada para a fração diclorometânica. Conclui-se que a fração de acetato de etila e de diclorometânica da *F. chica* demonstraram desempenho potente a moderado contra os isolados de *Aeromonas* spp. obtidos de *C. macropomum*.

Palavras-chave: *Aeromonas*. Resistência bacteriana. Ecossistemas aquáticos. Bioprospecção.

1. Introduction

Commonly known as crajiru, pariri, and carajuru, *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann is a species native to the Brazilian Amazon region and belongs to the family Bignoniaceae. It is a climbing shrub that can reach up to two meters in height (Ferreira, 2005). Its astringent and emollient properties, as well as its characteristic red pigment resulting from

presence of 3-deoxyanthocyanins, particularly carajurin (Zorn et al., 2001), have been widely exploited in cosmetic production (Barros et al., 2008).

Fridericia chica also exhibits several pharmacological properties, including antimicrobial activity (Mafioleti et al., 2013), anti-inflammatory, antiangiogenic, and antiproliferative effects (Michel et al., 2015), wound-healing activity (Aro et al., 2013), antiparasitic effects (Miranda et al., 2017), and antioxidant activity (Siraichi et al., 2013; Martins et al., 2016; Ribeiro et al., 2018). Although this species has been extensively studied and its biological activities well documented, studies evaluating its antimicrobial activity against pathogenic *Aeromonas* isolated from native fish species remain unavailable.

Among pathogens affecting fish, bacteria belonging to genus *Aeromonas* are widely recognized for their pathogenicity (Sebastião et al., 2015; Pessoa et al., 2019). Currently, 36 *Aeromonas* species have been described, of which at least 19 are considered emerging pathogens (Pessoa et al., 2019; Fernández-Bravo and Figuera, 2020). Among these, *Aeromonas hydrophila* stands out as one of the most frequently isolated species in global aquaculture, infecting a wide range of fish species (Pessoa et al., 2019). In Brazil, occurrence of this bacterium has been reported in native fish such as *Colossoma macropomum* (Pessoa et al., 2019; Leão et al., 2020; Gallani et al., 2020; Silva et al., 2024).

Motile aeromonads cause Motile Aeromonas Septicemia (MAS), a disease characterized by hemorrhagic septicemia with skin lesions, hemorrhages, and ulcerations, often accompanied by stress-related hyperlocomotion and high morbidity and mortality rates (Figueiredo and Leal, 2008; Tavares-Dias and Martins, 2017; Bandeira Junior et al., 2019; Pessoa et al., 2019).

Despite the importance of this bacterial group in aquaculture and frequent recurrence of infections, no antimicrobial compounds are currently approved in Brazil for treatment of aeromonosis in native fish species. In this context, plant-derived natural extracts with phytogenic potential (Hashemi and Davoodi, 2011) represent promising alternatives such as

natural antimicrobials, supporting development of effective and sustainable protocols for bacterial disease control in fish. Therefore, this study aimed to evaluate antimicrobial activity of fresh extract and fractions from *Fridericia chica* (Bignoniaceae) against multidrug-resistant pathogenic *Aeromonas* isolated from *Colossoma macropomum*.

2. Materials and Methods

2.1 Plant Material

Leaves of *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann (pariri) were collected from adult plants during the rainy season in the morning, a period associated with higher concentrations of phenolic compounds (Baskar, Venkatesh, and Ramalingam, 2018). Sampling was conducted in the municipality of São Luís, Maranhão State, Brazil (2°35'21.8" S, 44°12'19.1" W). A voucher specimen was deposited in the Ático Seabra Herbarium of the Federal University of Maranhão (UFMA) under registration number 01067.

2.2 Preparation of Fresh Extract and Fractions of *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann

After collecting, leaves of *F. chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann were washed, separated, and ground using a knife mill at the Food and Water Microbiology Laboratory (LMAA) of the State University of Maranhão (UEMA).

Plant material was subjected to the following extraction procedures: (i) 70 g of ground *F. chica* leaves were immersed in 700 mL of 70% (v/v) ethanol; (ii) maceration was performed for seven days with daily homogenization, consistently in the afternoon; (iii) resulting fresh extract was concentrated by rotary evaporation at 40 °C and subsequently lyophilized; and (iv) after solvent removal, 10 g of lyophilized extract were resuspended in 100 mL of distilled water and subjected to liquid–liquid partitioning with organic solvents (hexane, dichloromethane, and ethyl acetate), applied sequentially from lowest to highest polarity. Fractionation was conducted

at the Microbiology Laboratory of the Food and Water Control Program at the Federal University of Maranhão (UFMA).

All extraction and fractionation procedures were performed under light-protected conditions and controlled temperature to prevent chemical degradation of secondary metabolites. After fraction separation, extraction yield of crude extract and fractions was calculated according to equations described below:

$$\text{Eq. 1: Total mass} = \frac{\text{Mass per mL} \times \text{Filtrate volume}}{1 \text{ mL}}$$

$$\text{Eq. 2: Yield (\%)} = \frac{\text{Total mass} \times 100}{\text{Mass of material used for maceration or partitioning}}$$

The extract and its fractions were solubilized in 1% dimethyl sulfoxide (DMSO) for pharmacological assays.

2.3 Quantification of total phenolics and flavonoids

Total phenolic content in fresh extract and fractions of *F. chica* was determined using the Folin–Ciocalteu method, following procedures described by Waterhouse (2012). Total flavonoid content was quantified by linear regression using a quercetin standard curve at concentrations ranging from 5 to 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

For flavonoid analysis, 2 mL of fresh extract were mixed with 2 mL of 2% (w/v) aluminum chloride solution and incubated in the dark for 10 min. Absorbance was then measured using a spectrophotometer at 425 nm against a blank consisting of 2 mL of purified water and 2 mL of 2% aluminum chloride solution. All analyses were performed in triplicate.

2.4 High-performance liquid Chromatography (HPLC) analysis of the fresh extract

A stock solution of the extract in methanol was prepared and analyzed by direct infusion using a Bruker Impact mass spectrometer equipped with electrospray ionization (ESI). Analyses were conducted primarily in positive ion mode. Source conditions were set as follows: nebulizer pressure at 12 psi; dry gas flow at 4 L min⁻¹ with a temperature of 180 °C; and capillary voltage of 4500 V.

After spray stabilization, continuous signal acquisition was initiated, enabling direct detection of ions present in the sample without chromatographic separation. Full-scan mass spectra were acquired in both positive and negative ionization modes, allowing detection of molecular ions, adducts, and relevant isotopic patterns. Data acquisition and processing were performed using Bruker software.

Direct infusion mass spectrometric analyses were conducted at the Analytical Centre of the Institute of Chemistry, University of São Paulo (USP).

2.5 Bacterial isolates of *Aeromonas* spp.

Fifty-four bacterial isolates from the culture collection of the Food and Water Microbiology Laboratory at the State University of Maranhão (UEMA) were used in this study. Isolates were confirmed at the genus level as *Aeromonas* spp. through phenotypic and molecular analyses. Some isolates were further characterized by molecular detection of genes encoding virulence factors, including aerolysin (*aerA*) and cytotoxic enterotoxin (*act*). All isolates exhibited multidrug resistance to commercially used antibiotics. Motile *Aeromonas* reference strains obtained from the American Type Culture Collection (ATCC) were included to ensure standardization and reproducibility of results.

Bacterial isolates were obtained from kidney and liver samples of *Colossoma macropomum* (36.6 ± 4.32 cm total length and 998 ± 248.30 g body weight) reared on rural farms located on Ilha do Maranhão. All farms shared similar production characteristics,

including: (i) semi-intensive culture systems in excavated ponds; (ii) use of balanced commercial extruded feed; and (iii) tambaqui as the primary cultured species.

Prior to antimicrobial assays, isolates were purified on blood agar to ensure viability and absence of contamination, thereby guaranteeing reliability of subsequent analyses.

2.6 Determination of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

Bacterial suspensions were standardized by inoculating 24-h cultures into sterile saline solution to achieve turbidity equivalent to a 0.5 McFarland standard (approximately 1.5×10^8 CFU mL⁻¹), confirmed by spectrophotometric reading at 600 nm, with absorbance values ranging from 0.10 to 0.15 nm. Gentamicin was used as a positive control. Plant extract and fractions were prepared as stock solutions in Mueller–Hinton Broth containing 0.1% dimethyl sulfoxide (DMSO) at the following concentrations: 10,000 µg mL⁻¹ for the fresh extract, hexane fraction, and aqueous fraction; 1,000 µg mL⁻¹ for the dichloromethane fraction; and 250 µg mL⁻¹ for the ethyl acetate fraction.

MIC assays were performed in sterile 96-well microplates. Mueller–Hinton Broth (100 µL) was added to wells B–H in columns 1–9, as well as to wells in columns 10–12 (negative control) in rows A and H. Wells B–D in columns 10–12 received 100 µL of Mueller–Hinton Broth (negative control), whereas wells E–G in columns 10–12 received 100 µL of gentamicin solution (positive control).

Wells A1–A9 received 200 µL of plant extract or fraction stock solutions. After homogenization, 100 µL were serially transferred from row A to row B (columns 1–9), and this procedure was repeated sequentially down to row H. After homogenization of row H, 100 µL were discarded to maintain equal volumes. Subsequently, 10 µL of bacterial suspension were added to all wells, except to negative control wells in rows A and H of columns 10–12, resulting in a final volume of 110 µL per well. Plates were incubated at 28 °C for 24 h, the optimal

temperature for growth of *Aeromonas* spp.

After incubation, 30 μL of sterile resazurin solution were added to each well, followed by incubation at 37 °C for 2 h. MIC determination was based on visual assessment: blue coloration indicated absence of bacterial growth, whereas pink coloration indicated bacterial growth (Figure 6). The MIC was defined as the lowest concentration of extract or fraction capable of inhibiting growth of at least 90% of the tested bacterial isolates, corresponding to absence of color change from blue to pink.

2.7 Determination of Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

Minimum Bactericidal Concentration (MBC)¹¹ was determined using the spread-plate method. This technique involved inoculating microbial suspensions onto the surface of Plate Count Agar (PCA).

Aliquots of 10 μL were aseptically collected from wells used in the MIC assay that showed absence of bacterial growth, indicated by blue coloration, and spread onto PCA plates. Plates were incubated at 35 °C for 24 h, after which colony-forming units (CFU) were counted. Bactericidal activity was defined as absence of colony growth or growth of up to 20 CFU on the agar surface, whereas growth exceeding 20 CFU indicated bacteriostatic activity. Appearance of colonies at a given concentration indicated failure to inhibit or eliminate at least 99.9% of the initial bacterial inoculum.

2.8 Toxicity assay using *Tenebrio molitor* larvae

Tenebrio molitor larvae at the final developmental stage (prepupa) were used in the toxicity assay and obtained from Biofábrica São Luís. Larvae were standardized by body weight

¹¹This corresponds to the lowest concentration, expressed in $\mu\text{g mL}^{-1}$, required to render microbial cells nonviable by inducing irreversible damage, resulting in 99.9% bacterial cell death.

(100–200 mg) and distributed into Petri dishes, forming 12 experimental groups with 10 larvae each, for a total of 120 individuals. Of these, nine groups were assigned to treatment conditions and three served as controls: (i) clean control (larvae and feed only); (ii) blank control (sterile H₂O); and (iii) sham control (larvae punctured with a needle without injection).

In the treatment groups, larvae received injections of 10 µL of fresh extract (100, 40, and 2.5 µg mL⁻¹), dichloromethane fraction (100, 40, and 2.5 µg mL⁻¹), or ethyl acetate fraction (100, 40, and 2.5 µg mL⁻¹). Injections were administered using an insulin syringe (30 IU), with the needle inserted once per larva.

After treatment, larvae were maintained under controlled conditions at the Prof. Iraci Paiva Coelho Entomology Laboratory (UEMA) and fed a diet consisting of oats and flaked cornmeal mixed at a 2:2:2 ratio (w/w). Survival was assessed every 24 h for seven consecutive days. Mortality was determined based on presence of melanization and absence of response to physical stimuli.

2.9 Statistical analysis

Data were analyzed using GraphPad Prism 7 software. Parametric data were analyzed by analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's test. Nonparametric data were analyzed using the Kruskal–Wallis's test, followed by Dunn's test. In all analyses, differences were considered statistically significant at $p \leq 0.05$.

3. Results

3.1 Extraction yields of *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann extract and fractions

The extraction method allowed recovery of fractions with different polarities due to use of solvents with varying polarity. Extraction yields of the fresh extract and its fractions are summarized in Table 1, ranging from 2.46% to 19.48%.

Table 1. Extraction yield of fresh extract and aqueous, dichloromethane, hexane, and ethyl acetate fractions of *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann

Sample	Yield (%)*
Fresh extract	12.68 ^a ± 0.262
Hexane fraction	11.69 ^a ± 2.939
Dichloromethane fraction	2.46 ^b ± 0.335
Ethyl acetate fraction	19.48 ^a ± 3.332
Aqueous fraction	18.46 ^a ± 0.793

* Means of five replicates ± standard deviation are shown. Means followed by different letters within the same column differ significantly according to Tukey's multiple comparisons test ($p < 0.05$)

Among the fractions obtained, the ethyl acetate fraction exhibited the highest yield, followed by the aqueous, hexane, and dichloromethane fractions (Table 1).

3.2 Total phenolic and flavonoid contents of extract and fractions from *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann

Chemical quantification of extract and fractions from *F. chica* is summarized in Table 2, presenting values obtained by linear regression based on calibration curves for total phenolics ($y = 0.0007x - 0.0762$; $R^2 = 0.9940$) and total flavonoids ($y = 0.0294x - 0.0898$; $R^2 = 0.9961$).

Table 2. Total phenolic content of fresh extract and aqueous, dichloromethane, hexane, and ethyl acetate fractions of *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann.

Analyzed Sample	Chemical Quantification	
	Total phenolic	Total flavonoids
	(mg GAE g ⁻¹)*	(mg QE g ⁻¹)*

Fresh extract	3172 ^a ± 1.90	2606 ^a ± 6.13
Aqueous fraction	259.8 ^b ± 3.81	150.9 ^b ± 6.14
Dichloromethane fraction	1081 ^c ± 2.52	650.5 ^c ± 6.14
Hexane fraction	703.6 ^d ± 5.04	239.8 ^d ± 4.90
Ethyl acetate fraction	2605 ^e ± 1.65	17214 ^e ± 3.54

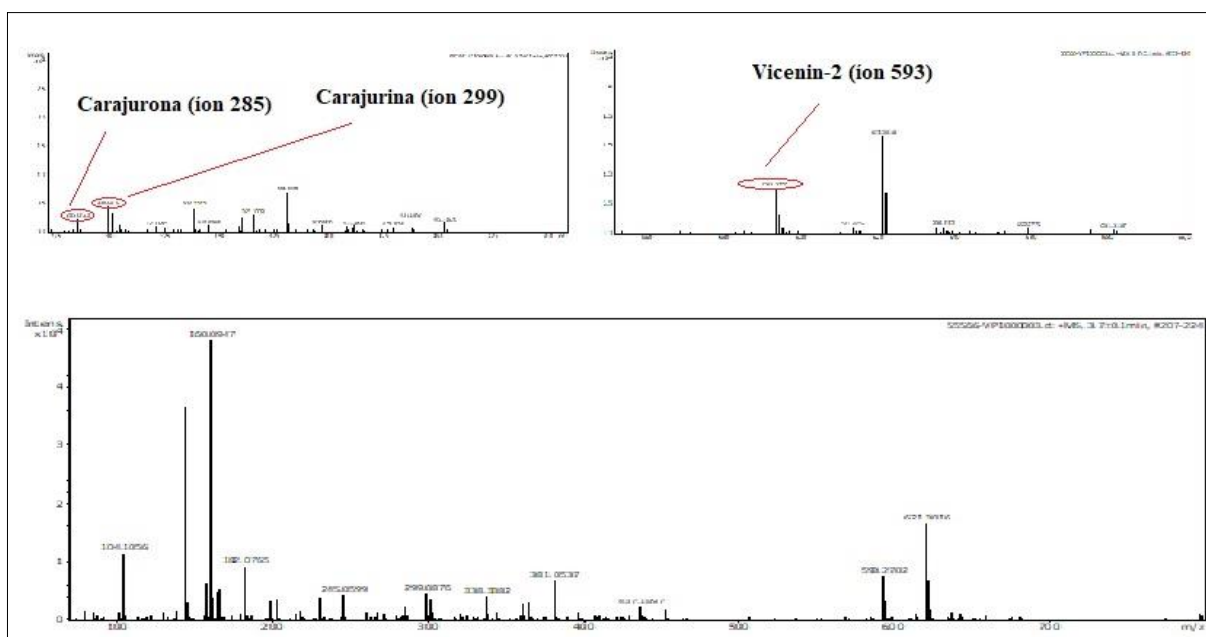
*GAE = gallic acid equivalent. *EQ = quercetin equivalent. Means of three replicates ± standard deviation are shown. Means followed by different letters within the same column differ significantly according to Tukey's multiple comparisons test ($p < 0.05$)

The fresh extract (3172 ± 1.90) and the ethyl acetate fraction ($2,605 \pm 1.65$) exhibited the highest total phenolic contents, with values significantly higher than those of the other fractions and with a statistically significant difference between them (Table 2). A similar pattern was observed for total flavonoid content, with the fresh extract ($2,606 \pm 6.13$) and, particularly, the ethyl acetate fraction ($17,214 \pm 3.54$) showing the highest values and a significant difference between them. The remaining fractions, which presented lower contents, also differed significantly from one another.

3.3 Chemical profile of the fresh extract by high-performance liquid chromatography

Analysis of the *F. chica* fresh extract by mass spectrometry using positive-mode electrospray ionization (ESI⁺), performed by direct infusion and full-scan acquisition, revealed a complex chemical profile (Figure 1) characteristic of plant extracts rich in secondary metabolites. Because collision-induced dissociation (MS/MS) experiments were not conducted, detected signals were interpreted as protonated molecular ions, adducts, and related ionic species, which precluded unequivocal assignment of fragment ions.

Figure 1. Mass spectrum of the fresh extract of *Fridericia chica* obtained by direct infusion electrospray ionization in positive mode (ESI⁺).



Source: Author's file (2025)

The mass spectrum obtained (Figure 1) exhibited a distribution of ions mainly within the m/z ranges of 120–260, 270–500, and 550–690, indicating presence of low-, medium-, and high-molecular-weight compounds. The most intense signal was detected at m/z 160.0947 and was interpreted as the protonated molecular ion $[M+H]^+$ of the major metabolite present in the fresh extract.

In addition to this predominant compound (m/z 160.0947), several lower-intensity ions were detected in the m/z range of 130–250 (m/z 144.1001, 166.0817, 203.0501, 217.0286, and 245.0599). These signals are consistent with simple phenolic metabolites or structurally related ions commonly observed in positive-mode ESI⁺ analyses of plant extracts.

Within the intermediate mass range (m/z 280–380), prominent signals were observed at m/z 285.0723, 299.0876, 345.0552, 365.1009, and 381.0537. Based on accurate mass data, it was possible to tentatively identify carajurone at m/z 285.0723 $[M+H]^+$ and carajurin at m/z 299.0876 $[M+H]^+$, compounds previously reported in *F. chica*.

Additional ions detected between m/z 400 and 460 (m/z 411.1934, 429.3693, 437.1897, and 453.1620) suggest presence of conjugated phenolic metabolites, possibly glycosylated

flavonoids or anthraquinone derivatives, reflecting increased structural complexity. In the higher mass region (m/z 580–690), the spectrum displayed a low-complexity profile, characterized by predominance of ions at m/z 621.3016, considered the base peak in this range, and m/z 593.2702, along with lower-intensity signals at m/z 637.2959, 659.2775, and 681.3187. These ions are compatible with high-molecular-weight polyphenols, potentially diglycosylated flavonoids or polysubstituted anthraquinones, complementing the metabolite profile observed at lower m/z values.

The ion detected at m/z 593.2702 is compatible, within an exploratory framework, with C-glycosylated flavonoids widely reported in plant species of the same genus, including vicianin-2 (apigenin-6,8-di-C-glucoside), whose deprotonated ion $[M-H]^-$ has a theoretical m/z of approximately 594.15 (Alvarez-Ortega et al., 2021). Considering prior reports of this metabolite in *F. chica*, the detected compound may be tentatively assigned as a flavonoid structurally related to vicianin-2.

3.4 Evaluation of antimicrobial activity of *Fridericia chica* extract and fractions

Minimum inhibitory concentration (MIC) values of fresh extract and fractions from *F. chica* were determined against 54 multidrug-resistant *Aeromonas* spp. isolates, all of which were inhibited by at least one tested concentration (Table 3). The ethyl acetate fraction (250–1.95 $\mu\text{g mL}^{-1}$) and the dichloromethane fraction (1,000–7.81 $\mu\text{g mL}^{-1}$) exhibited the strongest antimicrobial activity, showing inhibitory effects at lower concentrations than those observed for the other fractions and the fresh extract.

Table 3. Minimum inhibitory concentration (MIC) of fresh extract and aqueous, dichloromethane, hexane, and ethyl acetate fractions of *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann, and gentamicin, against 54 *Aeromonas* spp. isolates after 24 h of exposure

Minimum Inhibitory Concentration - MIC ($\mu\text{g/mL}$)*						
<i>Aeromonas</i> spp.	Fraction					
	Fresh Extract	Aqueous	Dichloromethane	Hexane	Ethyl Acetate	Gentamicin
<i>A. caviae</i> (n=30)	808.6 $\pm$ 780.3	10,000 $\pm$ 0.00	25.00 $\pm$ 7.66	10,000 $\pm$ 0.00	1.95 $\pm$ 0.00	4.68 $\pm$ 0.54
<i>A. veronii</i> <i>by veronii</i> (n=12)	1,660.2 $\pm$ 1,977.5	10,000 $\pm$ 0.00	27.34 $\pm$ 6.77	10,000 $\pm$ 0.00	1.95 $\pm$ 0.00	9.37 $\pm$ 2.75
<i>A. schubertii</i> (n=03)	1,250 $\pm$ 0.0	10,000 $\pm$ 0.00	31.25 $\pm$ 0.00	10,000 $\pm$ 0.00	1.95 $\pm$ 0.00	12.50 $\pm$ 0.00
<i>A. sobria</i> (n=03)	10,000 $\pm$ 0.0	10,000 $\pm$ 0.00	15.62 $\pm$ 0.00	10,000 $\pm$ 0.00	1.95 $\pm$ 0.0	6.25 $\pm$ 0.00
<i>A. hydrophyla</i> (n=03)	1250 $\pm$ 0,0	10,000 $\pm$ 0.00	31.25 $\pm$ 0.00	10,000 $\pm$ 0.00	1.95 $\pm$ 0.0	3.12 $\pm$ 0.00
<i>A. media</i> (n=03)	39.06 $\pm$ 0.0	10,000 $\pm$ 0.00	15.62 $\pm$ 0.00	10,000 $\pm$ 0.00	1.95 $\pm$ 0.0	6.25 $\pm$ 0.00

Where:*Means $\pm$ standard deviation

Both ethyl acetate and dichloromethane fractions demonstrated strong antimicrobial activity; however, the ethyl acetate fraction was the most effective, inhibiting growth of all tested isolates even at the lowest concentration assessed. In contrast, the fresh extract showed variable activity among *Aeromonas* spp. isolates, with more pronounced effects against *A.*

media and *A. hydrophila*. The aqueous and hexane fractions showed limited activity, as most isolates exhibited resistance even at the highest tested concentration ($10,000 \mu\text{g mL}^{-1}$), indicating weak antimicrobial effects.

MIC and minimum bactericidal concentration (MBC) results (Table 4) further confirmed strong antimicrobial potential of the dichloromethane and ethyl acetate fractions of *F. chica*, as both exhibited low concentrations capable of effectively inhibiting and killing the tested isolates. Notably, the ethyl acetate fraction showed the best overall performance, with MIC and MBC values of $1.95 \mu\text{g mL}^{-1}$ against all isolates, demonstrating efficacy at concentrations lower than those of gentamicin ($3.12 \mu\text{g mL}^{-1}$), used as a broad-spectrum positive control. MBC results also indicated strong bactericidal activity of the fresh extract against *A. media* and moderate activity against *A. caviae*.

Table 4. Minimum bactericidal concentration (MBC) of fresh extract and dichloromethane and ethyl acetate fractions of *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann, and gentamicin, against 54 *Aeromonas* spp. isolates after 24 h of exposure

Minimum bactericidal concentration – MBC ($\mu\text{g/mL}$)				
<i>Aeromonas</i> spp.	Fresh Extract	Fraction		Gentamicin
		Dichloromethane	Ethyl Acetate	
<i>A. caviae</i> (n=30)	1,209.4 $\pm$ 1102.2	35.94 $\pm$ 14.06	1.95 $\pm$ 0.00	4.69 $\pm$ 0.54
<i>A. veronii</i> by <i>veronii</i> (n=12)	2,031.3 $\pm$ 1985.4	54.69 $\pm$ 13.53	1.95 $\pm$ 0.00	9.37 $\pm$ 2.75
<i>A. schubertii</i> (n=03)	2,500 $\pm$ 0.00	31.25 $\pm$ 0.00	1.95 $\pm$ 0.00	12.50 $\pm$ 0.00

<i>A. sobria</i> (n=03)	2,500± 0.00	62.5 ± 0.00	1.95± 0.00	6.25± 0.00
<i>A. hydrophyla</i> (n=03)	2,500± 0.00	31.25 ± 0.00	1.95± 0.00	3.12 ± 0.00
<i>A. media</i> (n=03)	78.12± 0.00	15.62 ± 0.00	1.95± 0.00	6.25± 0.00

*Means ± standard deviation

3.5 Evaluation of toxicity using *Tenebrio molitor* larvae

Table 5 summarizes acute toxic effects of the fresh extract (FE) and the dichloromethane and ethyl acetate fractions of *F. chica* at different concentrations, assessed based on survival of experimental organisms over a seven-day period following treatment.

All control groups (sham, blank, and clean) exhibited 100% survival throughout the experiment, indicating absence of spontaneous mortality and confirming adequacy of experimental conditions. These results also demonstrate that neither experimental procedures nor exposure medium interfered with larval viability.

Table 5. Acute toxicity assessment based on survival of *Tenebrio molitor* larvae over 7 days following treatment with different concentrations of fresh extract and fractions of *Fridericia chica*

Group	Concentration (µg/mL)	Tested Larvae (n°)	<i>Tenebrio molitor</i> (n= 120)		
			Live (n°)	Dead (n °)	Survival (%)
Sham control	—	10	10	0	100
Blank control	—	10	10	0	100

Clean control	—	10	10	0	100
FE 2.5	2,5	10	10	0	100
FE 40	40	10	10	0	100
FE 100	100	10	09	1	90
DM 2.5	2.5	10	10	0	100
DM 40	40	10	10	0	100
DM 100	100	10	9	1	90
EA 2.5	2.5	10	08	2	80
EA 40	40	10	09	1	90
EA 100	100	10	10	10	100

Where: FE = fresh extract; DM = dichloromethane fraction; EA = ethyl acetate fraction.

For the fresh extract, 100% survival was observed at concentrations of 2.5 and 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$. At 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, one larva died, resulting in a survival rate of 90%, indicating a slight increase in toxicity only at the highest tested concentration.

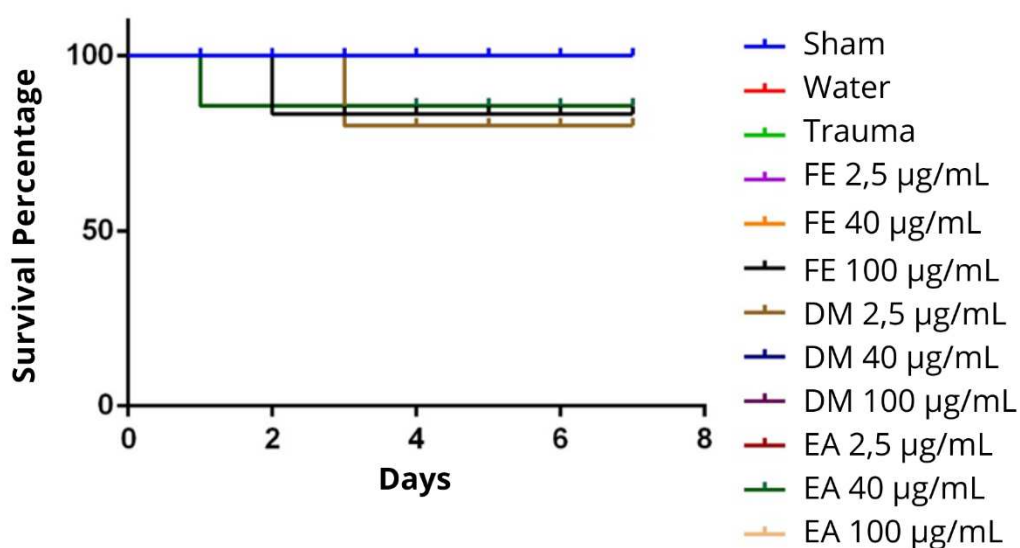
The dichloromethane fraction exhibited a toxicity profile similar to that of the fresh extract. Concentrations of 2.5 and 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ did not induce mortality, maintaining 100% survival. At 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, survival decreased to 90%, suggesting a possible dose-dependent trend, although toxicity remained moderate.

In contrast, the ethyl acetate fraction exerted a greater effect on *T. molitor* survival compared with the other treatments. At 2.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, survival decreased to 80%, indicating increased sensitivity of larvae even at the lowest concentration tested. At 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$, survival increased to 90%, approaching values observed for the fresh extract and dichloromethane fraction. However, at 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, survival reached 100%, suggesting a non-linear toxicity response, possibly related to differences in bioavailability, metabolism, or interaction with the test organism.

Survival curve analysis of *T. molitor* larvae was performed using the Kaplan–Meier method (Figure 2) and demonstrated absence of relevant toxicity at the lowest concentrations evaluated.

Figure 2. Survival curve analysis of *Tenebrio molitor* larvae exposed to different concentrations of fresh extract (FE) and dichloromethane (DM) and ethyl acetate (EA)

fractions of *Fridericia chica*



Where: The Kaplan–Meier survival curves represent mean $\pm$ standard deviation values ($n = 10$ larvae per group).

The clean group, which was neither subjected to trauma nor exposed to extracts, maintained 100% survival. The same outcome was observed in the other control groups, indicating absence of mortality and providing a reference for normal survival. Among groups treated with the fresh extract and fractions of *F. chica*, concentrations of 2.5 and 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ did not affect survival, yielding results identical to those of the control groups and indicating absence of detectable toxicity at these concentrations. In contrast, exposure to the highest concentration of the dichloromethane fraction (100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) resulted in a reduction in survival, suggesting a potential toxic effect at this concentration.

4. Discussion

The higher yields obtained for the ethyl acetate fraction may be associated with solvent polarity, as solvents of intermediate polarity favor extraction of a broader range of secondary metabolites. In addition, several factors—including extraction technique, type of plant material, particle size, extraction time, and temperature—can directly influence extract yield (Andreo et al., 2006).

The high phenolic content observed may be directly related to solvent polarity, as extraction of these metabolites is generally more efficient with solvents of greater polarity (Al-Reza et al., 2009; Mohamed et al., 2013). This relationship is evidenced by the low phenolic levels detected in the hexane fraction, obtained using a nonpolar solvent. Although the aqueous fraction represented the most polar solvent system, it exhibited the lowest total phenolic content, indicating that additional factors influence extract composition. As noted by Verruck (2018), variables such as soil characteristics, climatic conditions, collection period, extraction method, and chemical nature of the metabolites can substantially affect phytochemical profiles.

According to Chagas (2016) and Cruz et al. (2022), flavonoids are polyphenolic compounds commonly detected in extracts of *F. chica*, with higher abundance in leaves. These compounds exhibit a wide range of biological and pharmacological activities, including anti-inflammatory, antimicrobial, analgesic, and antiviral effects. As noted by Brito et al. (2021), given extensive diversity of bioactive constituents in plant matrices, no single solvent can isolate all compounds. Nevertheless, results of the present study demonstrate that the fresh extract and ethyl acetate fraction contained the highest levels of total phenolics and flavonoids.

The chemical profile obtained by ESI⁺ mass spectrometry highlighted metabolic diversity of the fresh extract, particularly through detection of carajurone and carajurin, compounds recognized as chemical markers of *F. chica* (Zorn et al., 2001). Presence of these metabolites supports reliability of the analytical data and is directly associated with biological

properties attributed to this species.

Identification suggested by mass spectrometric analysis corroborates previous studies that describe this species as a rich source of flavonoids, particularly C-glycosylated flavonoids (Siraichi et al., 2013; Campos de Siqueira et al., 2019). These findings reinforce consistency between the metabolic profile observed in the present study and those previously reported in the literature for *F. chica*.

In addition to the flavonoids widely reported for this species, identification of carajurone and carajurin further characterizes chemical composition of the fresh extract of *F. chica*. These compounds are recognized as chemical markers of the species, and their detection is consistent with data previously reported in the literature (Zorn et al., 2001), thereby reinforcing reliability of the chemical profile obtained in this study. Moreover, presence of carajurone and carajurin, compounds strongly associated with biological activities attributed to *F. chica*, highlights relevance of the analytical approach employed and supports robustness of the phytochemical findings (Gomes et al., 2024; Silva-Silva et al., 2021; Figueiredo et al., 2023).

Overall, results highlight chemical diversity of the *F. chica* extract, with predominance of phenolic metabolites, flavonoids, and anthraquinones at various levels of structural complexity. Nevertheless, definitive structural elucidation of detected compounds requires complementary analyses, particularly tandem mass spectrometry (MS/MS), to confirm proposed assignments.

MIC values obtained in this study are consistent with those reported in investigations addressing antimicrobial potential of medicinal plants against diverse bacterial species. Machado et al. (2003), for example, evaluated 14 extracts of Brazilian medicinal plants and reported strong activity of *Punica granatum* L. (pomegranate) extract against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Similarly, Alzoreky and Nakahara (2003), studying *Artemisia absinthium* (absinthe) extract against *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria* spp., *Salmonella* spp.,

and *Escherichia coli*, reported MIC values ranging from 165 to 2640 mg mL⁻¹; however, these concentrations were higher than those observed in the present study.

Plants constitute a rich reservoir of organic and inorganic compounds with diverse biological activities and long-standing relevance to human use. Their application as complementary therapies is often rooted in traditional knowledge transmitted across generations or influenced by community-based practices (Dias et al., 2018). In a contemporary context marked by widespread and frequently inappropriate antibiotic use, and consequent microbial adaptation to allopathic antimicrobials, Nazaré and Braz (2020) underscored urgency of identifying new antimicrobial agents. These authors emphasized need for novel therapeutic options to control resistant bacteria. Within this framework, *Aeromonas* spp. represent pathogens of major relevance to global aquaculture, as Gram-negative bacteria responsible for reduced productivity and substantial economic losses.

Brazil has considerable potential to contribute to development of phytotherapeutic products, given its extensive biodiversity, favorable soil conditions, and substantial number of medicinal plant species already identified (Brandão et al., 2006). At the same time, options for antibiotic treatment of bacterial diseases in fish remain limited, largely due to physiological diversity among fish species and complexity of aquatic environments, which exceed those observed in terrestrial animals (Smith et al., 2008). Prolonged and excessive use of antimicrobials has further intensified selection pressure, leading to emergence of resistant bacterial strains. This scenario represents a critical concern, as it disrupts balance in natural aquatic microbiota, alters microbial ecosystem dynamics, and favors proliferation of multidrug-resistant pathogens.

For these reasons, production of standardized extracts from *F. chica* with antimicrobial activity against different pathogenic *Aeromonas* spp. isolated from tambaqui appears promising. Results of the present study demonstrate feasibility of developing phytotherapeutic products for

treatment of aeromonosis in native fish species.

It is well established that molecules isolated from natural products often serve as prototypes for drug discovery and for investigation of new therapeutic activities (Rates, 2001). According to Ianck et al. (2017), medicinal plants represent valuable sources of bioactive compounds for pharmaceutical development and are associated with lower research costs compared with synthetic molecules. In this context, findings of the present study highlight potential of *F. chica* as an alternative strategy for control of *Aeromonas* spp. in native fish, contributing to reduction in use of synthetic antibiotics and, consequently, to biodiversity conservation and protection of aquatic ecosystems against dissemination of antimicrobial resistance genes.

Toxicity assays conducted with 120 *Tenebrio molitor* larvae indicated low acute toxicity, corroborating previous studies using invertebrate models (Verbel et al., 2021). These results reinforce potential of *F. chica* as a source of bioactive compounds with favorable safety profiles for therapeutic applications. Similarly, low or absent mortality observed in treated groups is consistent with reports demonstrating minimal toxicity of *F. chica* extracts in other biological models, such as *Caenorhabditis elegans* (nematode), even at elevated concentrations (Verbel et al., 2021).

These results reinforce that plant extracts such as *F. chica* generally exhibit low acute toxicity in invertebrate models when evaluated within moderate concentration ranges, with dose-dependent effects emerging only at higher levels. Thus, *T. molitor* represents a sensitive, reliable, and reproducible model for initial toxicological screening of natural products.

Overall, data obtained underscore potential of *F. chica* as an alternative for control of *Aeromonas* spp., contributing to reduction of synthetic antibiotic use in aquaculture and mitigation of antimicrobial resistance spread. Based on these results, it can be concluded that the fresh extract, as well as ethyl acetate and dichloromethane fractions, exhibited antimicrobial

activity ranging from strong to moderate against pathogenic *Aeromonas* isolates from *Colossoma macropomum*. These findings demonstrate effectiveness of tested compounds and reinforce their potential for development of natural antimicrobial agents.

5. Acknowledgements

The authors thank the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), the State University of Maranhão, the Food and Water Microbiology Laboratory team, and the Prof. Iraci Paiva Coelho Entomology Laboratory for institutional support, infrastructure, and technical assistance that made this research possible.

6. References

- AL-REZA, S.M., 2009. Chemical composition and inhibitory effect of essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. on food-borne pathogens. *International Journal of Food Science & Technology*, vol. 44, no. 6, pp. 1176-1182.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01939.x>.
- ALVAREZ-ORTEGA, N., 2021. Protective Effects of the Hydroethanolic Extract of *Fridericia chica* on Undifferentiated Human Neuroblastoma Cells Exposed to α -Zearalenol (α -ZEL) and β -Zearalenol (β -ZEL). *Toxins*, vol. 13, no. 11, pp. 748.
<https://doi.org/10.3390/toxins13110748>.
- ALZOREKY N.S. e NAKAHARA K., 2003. Antibacterial activity of extracts from some plants commonly consumed in Asia. *Int J Food Microbiol*, vol. 80, pp. 223-230.
doi: 10.1016/s0168-1605(02)00169-1.
- ANDREO, D. e JORGE, N., 2006. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, vol. 24, no. 2, pp. 319-336.
<http://dx.doi.org/10.5380/cep.v24i2.7489>.

- ARO, A.A., 2013. *Arrabidaea chica* extract improves gait recovery and changes collagen content during healing of the Achilles tendon. *Injury*, vol. 44, pp. 884-892, 2013. doi: 10.1016/j.injury.2012.08.055.
- BANDEIRA JUNIOR, G., 2019. Plant essential oils bacteria isolated from fish: an in vitro screening and in vivo efficacy of *Lippia origanoides*. *Ciência Rural*, vol. 49, no. 6, pp. 1-8. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190064>.
- BARROS, F.C.F., POHLIT, A.M. e CHAVES, F.C.M., 2008. Effect of substrate and cutting diameter on the propagation of *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl. (Bignoniaceae). *Revista Brasileira de Plantas Medicinias*, vol. 10, pp. 38-42.
- BASKAR, V., VENKATESH, R. e RAMALINGAM, S., 2018. Flavonoides (sistemas antioxidantes) em plantas superiores e sua resposta a estresses. Em: *Antioxidantes e Enzimas Antioxidantes em Plantas Superiores* ; Springer: Cham, Suíça, pp. 253–268. doi: 10.1007/978-3-319-75088-0_12.
- BRANDÃO, M.G.L., 2006. Complementary/Alternative Medicine in Latin America: Use of Herbal Remedies among a Brazilian Metropolitan Area Population. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, vol. 3, no. 1, pp. 1-12. doi: 10.2202/1553-3840.1025.
- BRITO, B.S.N., 2021. Influência da temperatura de rotaevaporação e do tipo de resíduo na extração de compostos bioativos de jamelão (*Syzygium cumini*). *Research, Society and Development*, vol. 10, no. 2. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12272>.
- CAMPOS DE SIQUEIRA, F., 2019. Profile of phenolic compounds and carotenoids of *Arrabidaea chica* leaves and the in vitro singlet oxygen quenching capacity of their hydrophilic extract. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, vol. 126, pp. 108597. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108597.

- CHAGAS, M.S.S, 2016. *Potencial terapêutico da espécie vegetal Arrabidaea chica Verlot*. Rio de Janeiro: Instituto de Tecnologia em Fármacos, 80p. Monografia (Especialização).
- CRUZ, A.F.G., 2022. High-Resolution Mass Spectrometry Identification and Characterization of Flavonoids from *Fridericia chica* Leaves Extract with Anti-Arbovirus Activity. *Molecules*, vol. 27, no. 18, pp. 6043. <https://doi.org/10.3390/molecules27186043>.
- GOMES, A., 2024. Immunomodulatory and Anticancer Effects of *Fridericia chica* Extract-Loaded Nanocapsules in Myeloid Leukemia. *Pharmaceutics*, vol. 16, no. 6, pp. 828. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16060828>.
- DIAS, E.C.M. 2018. Uso de fitoterápicos e potenciais riscos de interações medicamentosas: reflexões para prática segura. *Revista Baiana de Saúde Pública, Salvador*, vol. 41, no. 2, pp. a2306. <https://doi.org/10.22278/2318-2660.2017.v41.n2.a2306>.
- FERREIRA, M. G. R., 2005 [acessado em 25 de junho de 2025]. Crajiru (*Arrabidaea chica* Verlot). Embrapa: Porto Velho, Brasil [online]. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/24786/1/folder-crajiru.pdf>.
- FERNÁNDEZ BRAVO, A. e FIGUERA, M.J., 2020. the Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Epidemiology, and Pathogenicity. *Microorganisms*, vol. 8, no. 1, pp. 1-39. doi: 10.3390/microorganisms8010129.
- FIGUEIREDO, F.F., 2023. Evaluation of the gastroprotective and ulcer healing properties by *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann hydroethanolic extract of leaves. *Journal of ethnopharmacology*, vol. 309, pp. 116338. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116338>.
- FIGUEIREDO, H.C.P. e LEAL, C.A.G. 2008. Tecnologias aplicadas em sanidade de peixes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 37, pp. 8-14, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982008001300002>.
- GALLANI, S.U. 2020. Septicemia por *Aeromonas* móvel em tambaqui (*Colossoma macropomum*): patogenicidade, letalidade e novas perspectivas para controle e desinfecção

- na aquicultura. *Microbial Pathogenesis*, vol. 149, pp. 104512, 2020. doi: 10.1016/j.micpath.2020.104512.
- HASHEMI, S.R. e DAVOODI, H. 2011. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. *Veterinary Research Communications*, vol. 35, no. 3, pp.169-180. doi: 10.1007/s11259-010-9458-2.
- IANCK, M.A. 2017. Conhecimento e uso de plantas medicinais por usuários de unidades básicas de saúde na região de Colombo-PR. *Revista Saúde e Desenvolvimento*, vol. 11, no. 8, pp. 29-30.
- LEÃO, S.O.A. 2020. Ocorrência de *Aeromonas* multirresistentes em tambaquis cultivados em tamques escavados. *Scientia Amazonia*, vol. 9, no. 4, pp. 17-24.
- LOHMANN, L.G. 2015. Bignoniaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro* [online]. Disponível em: <http://floradobrasil2015.jbrj.gov.br/FB112305>.
- MACHADO, T. B, 2003. In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob*, vol. 21, no. 3, pp. 279-284. doi:10.1016/s0924-8579(02)00349-7.
- MAFIOLETI, L, 2013.Evaluation of the toxicity and antimicrobial activity of hydroethanolic extract of *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 150, pp. 576–582. doi: 10.1016/j.jep.2013.09.008.
- MARTINS, F.J, 2016. Antioxidant activity and potential photoprotective from amazon native flora extracts. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, vol. 161, pp. 34-39. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.05.012.
- MICHEL, A.F, 2015. Evaluation of anti-inflammatory, antiangiogenic and antiproliferative activities of *Arrabidaea chica* crude extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 165, pp. 29-38. doi: 10.1016/j.jep.2015.02.011.

- MIRANDA, N, 2017. Pheophorbide a compound isolated from the leaves of *Arrabidaea chica*, induces photodynamic inactivation of *Trypanosoma cruzi*. *Photodiagnosis Photodyn and Therapy*, vol. 19, pp. 256-265. doi: 10.1016/j.pdpdt.2017.05.004.
- MOHAMED A.A., ALI S.I. e EL-BAZ, F.K, 2013. Antioxidant and antibacterial activities of crude extracts and essential oils of *Syzygium cumini* leaves. *PLoS ONE*, vol. 8, no. 4. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060269>.
- NAZARÉ DE F. e BRAZ. J., 2020. Identificação da atividade antimicrobiana de fitoterápicos sobre Cepas *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 11303). *Mastereditora*, vol. 33, no. 2, pp. 19-23, 2020.
- VERBEL, J., 2021. The aqueous extract of *Fridericia chica* grown in northern Colombia ameliorates toxicity induced by Tergitol on *Caenorhabditis elegans*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. vol. 244, pp. 109026. doi: 10.1016/j.cbpc.2021.109026.
- PESSOA, R.B.G., 2019. The genus *Aeromonas*: A general approach. *Microbial Pathogenesis*, v. 130, p.81-94. doi: 10.1016/j.micpath.2019.02.036.
- RATES, S.M.K., 2001. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, vol. 11, no. 2, pp. 57-69. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2001000200001>.
- RIBEIRO, F.M. 2018. The extended production of UV-induced reactive oxygen species in L929 fibroblasts is attenuated by posttreatment with *Arrabidaea chica* through scavenging mechanisms. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, vol. 178, pp. 175–181. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.11.002.
- SEBASTIÃO, F.A., 2015. Identification of bacterial fish pathogens in Brazil by direct colony PCR and 16S rRNA gene sequencing. *Advances in Microbiology*, vol. 5, pp. 409-424. doi: 10.4236/aim.2015.56042.
- SILVA, A.R de A. 2024. Antimicrobial resistance profile of *Aeromonas* spp. isolated from

- tambaqui fish (*Colossoma macropomum*). *Revista Ambiente & Água*, vol. 19. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2936>.
- SILVA-SILVA, J. V., 2021. Carajurin: a anthocyanidin from *Arrabidaea chica* as a potential biological marker of antileishmanial activity. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, vol. 141, pp. 111910. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111910>.
- SIRAICHI, J. T., 2013. Antioxidant capacity of the leaf extract obtained from *Arrabidaea chica* cultivated in Southern Brazil. *PloS one*, vol. 8, no. 8, e72733. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072733>.
- SMITH, P.R., 2008. *Guidelines for antimicrobial use in aquaculture*. In: GUARDABASSI L., JENSEN L.B e KRUSE H., 2014. World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. *Guide to antimicrobial use in animals*, pp. 207-216.
- TAVARES-DIAS, M. e MARTINS, M.L., 2017. An overall estimation of losses caused by diseases in the Brazilian fish farms. *Journal of Parasitic Diseases*, vol. 41, no. 4, pp. 913-918. doi: 10.1007/s12639-017-0938-y.
- VERRUCK, S., PRUDENCIO, E.S. e SILVEIRA, S.M., 2018. Compostos Biotáticos com capacidade antioxidante e antimicrobiana em frutas. *Revista CSBEA*, vol. 1, no. 1, pp. 111-121. doi: 10.5965/24473650412018111.
- WATERHOUSE, A. 2012. [acessado em 24 de novembro de 2024]. Folin-Ciocalteu Micro Method for Total Phenol in Wine. Disponível em: <http://waterhouse.ucdavis.edu/faqs/folinciocalteu-micro-method-for-total-phenol-in-wine>.
- Zorn, B., 2001. 3-Desoxyanthocyanidins from *Arrabidaea chica*. *Fitoquímica*, vol. 56, pp. 831–835. doi: 10.1016/s0031-9422(01)00038-3.

7.2 Capítulo 2 - GUIA ORIENTATIVO

BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES EM AMBIENTES AQUÁTICOS E RISCOS PARA A SAÚDE ÚNICA



Autores

**Vitória Mendes da Silva Monteiro
Ruan Luis Farias do Vale
Deneilson Neves Santos
Judá Ben-Hur de Araújo Barros
Lucas Douglas Barros Fonseca
Ilka Márcia Ribeiro de Souza Serra
Nancyleni Pinto Chaves Bezerra**

**SÃO LUÍS
2025**

© copyright 2025 by UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
Qualquer parte desta publicação pode ser reproduzida, desde que citada a fonte.
Todos os direitos desta edição reservados à EDITORA UEMA.

**BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES EM AMBIENTES AQUÁTICOS
E RISCOS PARA A SAÚDE ÚNICA: GUIA ORIENTATIVO SOBRE A
PROBLEMÁTICA DA PRESENÇA DE BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES EM
PISCICULTURAS**

EDITOR RESPONSÁVEL

Jeanne Ferreira Sousa da Silva

CONSELHO EDITORIAL

Alan Kardec Gomes Pachêco Filho • Ana Lucia Abreu Silva
Ana Lúcia Cunha Duarte • Cynthia Carvalho Martins
Eduardo Aurélio Barros Aguiar • Emânoel Cesar Pires de Assis
Emanoel Gomes de Moura • Fabíola Oliveira Aguiar
Helciane de Fátima Abreu Araújo • Helidacy Maria Muniz Corrêa
Jackson Ronie Sá da Silva • José Roberto Pereira de Sousa
José Sampaio de Mattos Jr • Luiz Carlos Araújo dos Santos
Marcelo Cheche Galves • Marcos Aurélio Saquet
Maria Medianeira de Souza • Maria Claudene Barros
Rosa Elizabeth Acevedo Marin • Wilma Peres Costa

Diagramação

Monteiro, Vitória Mendes da Silva.

Bactérias multirresistentes em ambientes aquáticos e riscos para a saúde única: guia orientativo sobre a problemática da presença de bactérias multirresistentes em pisciculturas./ Vitória Mendes da Silva Monteiro; Ruan Luis Farias do Vale; Deneilson Neves Santos; Judá Ben-Hur de Araújo Barros; Lucas Douglas Barros Fonseca; Ilka Márcia Ribeiro de Souza Serra; Nancyleni Pinto Chaves Bezerra. – São Luís, MA: Eduema, 2025.

18f

ISBN:978-85-8227-596-2

Guia Orientativo (Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, 2025.
Orientadoras: Profa. Dra. Nancyleni Pinto Chaves Bezerra.

Profa. Dra. Ilka Márcia Ribeiro de Souza Serra.

1. Antibióticos. 2. Peixes. 3. Bactérias. I. Monteiro, Vitória Mendes da Silva. [et.al.] II.Título

CDU: 561.23(036)

EDITORA UEMA

Cidade Universitária Paulo VI - CP 09 Tiraúca - CEP - 65055-970 São Luís - MA
www.editorauma.uma.br - editora@uma.br

Apresentação

A crescente preocupação com a saúde pública e a sustentabilidade ambiental exige que a aquicultura, em especial a piscicultura, adote práticas cada vez mais rigorosas para garantir a sanidade dos organismos aquáticos. Nos últimos anos, uma das questões mais alarmantes tem sido a presença de bactérias multirresistentes em ambientes aquáticos destinados à criação de peixes, o que representa uma ameaça significativa tanto para a saúde dos animais cultivados quanto para o ecossistema como um todo.

Pensando nisso, este guia orientativo foi elaborado com o objetivo de fornecer uma visão abrangente sobre o problema da resistência bacteriana nas pisciculturas, evidenciando os principais fatores se que destacam para o surgimento de cepas bacterianas resistentes, os impactos diretos e indiretos dessa resistência na produção de peixes e as melhores práticas para prevenção e controle.

Sumário

Introdução.....	06
1. Antibióticos utilizados no cultivo de peixes.....	07
2. Regulamentação da utilização e distribuição de antimicrobianos no cultivo de peixes.....	08
3. Perfis de resistência das principais bactérias patogênicas de interesse na piscicultura.....	09
3.1 <i>Aeromonas sp.</i>	09
3.2 <i>Streptococcus sp.</i>	10
3.3 <i>Escherichia coli</i>	12
4. Prevenção e Controle.....	13
5. Considerações finais.....	14
Referências.....	15

Introdução

Estima-se que as infecções bacterianas, em escala global, afetem centenas de milhares de pessoas; no entanto, esses números podem estar subestimados (Antimicrobial Resistance, 2014). A resistência bacteriana é um fenômeno natural, resultante da interação entre os micro-organismos e o ecossistema. Mesmo com o uso cuidadoso e restrito de antimicrobianos, a seleção de bactérias resistentes ainda ocorre. O uso inadequado desses medicamentos pode intensificar a resistência bacteriana, especialmente em locais onde são disponibilizados sem prescrição médica (Marques; Camplesi; Costa, 2023).

O desenvolvimento de resistência antimicrobiana é um processo natural, no qual os micro-organismos podem adquirir genes de resistência, algo que também é impulsionado pela pressão seletiva decorrente do uso excessivo e indiscriminado de antimicrobianos (Greene, 2015). Contudo, o ritmo de descoberta e desenvolvimento de novos antimicrobianos não tem acompanhado o surgimento de bactérias multirresistentes (Ferri, 2017; Huttner, 2013).

A seleção de bactérias resistentes pode ocorrer quando as concentrações do medicamento ficam abaixo da concentração inibitória mínima (CIM). Além disso, bactérias patogênicas, comensais e ambientais, elementos genéticos móveis e bacteriófagos constituem um reservatório de genes de resistência aos antimicrobianos, a partir do qual bactérias patogênicas podem adquirir resistência por meio de transferência horizontal de genes (Greene, 2015; Marques; Camplesi; Costa, 2023).

Diversos fatores contribuem para a propagação de bactérias resistentes, como o controle inadequado de infecções, a contaminação ambiental e o deslocamento geográfico de humanos e animais infectados. Além disso, hospitais, ambientes agrícolas e de estabelecimentos aquícolas, água, solo, vida selvagem e muitos outros biomas são considerados reservatórios de resistência bacteriana (Huijbers, 2015).

1 Antibióticos utilizados no cultivo de peixes

Efeitos na saúde pública

O cultivo de peixes no âmbito brasileiro e global vem crescendo de forma exponencial e com o aumento da intensificação dos sistemas de produção, os peixes são expostos a condições de estresse. Essas condições estressantes podem incluir práticas de manejo adotadas nos sistemas de produção, alta densidade, qualidade da água e nutrição (Elabd *et al.*, 2019).

Em consequência disso, os peixes se tornam mais propensos a contrair doenças bacterianas, que têm impacto negativo na sua eficiência produtiva (Doan *et al.*, 2019). Para a redução da carga de doenças na piscicultura, é comum o uso de antibióticos para fins profiláticos e terapêuticos (Cabello *et al.*, 2013). No Brasil, existem apenas dois antimicrobianos aprovados para uso na piscicultura, a oxitetraciclina e o florfenicol (Sindan, 2018).



Porém, a introdução de antibióticos no ambiente aquático contribui para o desenvolvimento de resistência antimicrobiana (RAM), ou seja, mesmo com a adição dos antibióticos no ambiente, as bactérias conseguem sobreviver nesse ambiente, o que afeta a população quando os peixes tratados com antibióticos são consumidos, ou quando a água contaminada não tratada alcança reservatórios naturais, infectando com bactérias resistentes e transferindo os seus genes para outros micro-organismos, agravando a disseminação da RAM entre humanos e animais (Cabello, 2006).

Dessa forma, o uso exacerbado de antibióticos nas pisciculturas que possuem genes de resistência a antimicrobianos importantes, representam um risco potencial à saúde pública e esses dados da resistência a vários medicamentos implicam na necessidade de monitoramento na cadeia produtiva e, a partir disso a regulamentação desses medicamentos (De Souza Gazal, 2020).

2 Regulamentação da utilização e distribuição de antimicrobianos na criação de peixes

A regulamentação do uso e distribuição de antimicrobianos na criação de peixes é uma questão crítica no contexto de produção sustentável de alimentos, saúde pública e preservação ambiental. O uso desses fármacos tem se tornado comum na produção animal para tratamento, prevenção de doenças e, em alguns casos, para promoção de crescimento.

Contudo, o uso excessivo e inadequado de antimicrobianos contribui para a seleção de bactérias resistentes, assim como o acúmulo de resíduos o que pode impactar tanto os peixes quanto a saúde humana, além de prejudicar o ecossistema aquático (Guardabassi; Kruse, 2010).



No Brasil, a regulamentação do uso de antimicrobianos na aquicultura é supervisionada pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA). Em 2017, o MAPA publicou a IN nº 26, que estabelece critérios para a importação, produção e distribuição de medicamentos utilizados na aquicultura (Brasil, 2017). Esse aparato regulatório exige que o uso de antimicrobianos seja prescrito por um médico veterinário e reforça a necessidade de monitoramento das substâncias e resíduos em organismos aquáticos.

O Brasil, por meio da Companhia das Cooperativas Agrícolas do Brasil (CCAB), adota as normas do Codex Alimentarius como referência para atualização da legislação nacional, estabelecendo os parâmetros regulatórios para os Limites Máximos de Resíduos (LMR) de antimicrobianos em alimentos de origem animal. Essas diretrizes também regulam o uso dos medicamentos veterinários para reduzir a resistência antimicrobiana, garantir a segurança dos produtos pesqueiros e minimizar os riscos ambientais associados (De Assis *et al.*, 2018).

Entretanto, desafios persistem na implementação prática dessas diretrizes e, devido à falta de fiscalização, a venda de antimicrobianos sem prescrição ainda ocorre, aumentando o risco de uso abusivo e inadequado. Diante desse contexto, a regulamentação do uso e distribuição de antimicrobianos na aquicultura brasileira é essencial para preservar a saúde pública e a sustentabilidade ambiental.

3 Perfis de resistência das principais bactérias patogênicas de interesse na piscicultura

Aeromonas sp.

O gênero *Aeromonas* é composto por bactérias gram-negativas em formato de bacilos, positivas para catalase e oxidase, e fermentadores de glicose, cujo tamanho varia entre 0,3 - 1,0 μm de comprimento por 1,0 - 3,5 μm de largura. Por serem bactérias naturalmente encontradas na água, isso resulta em enorme potencial patogênico, seja ele para organismos aquáticos ou para o homem, sendo consideradas oportunistas para ambos. Dessa forma, *Aeromonas* sp. são patógenos de interesse principalmente no cultivo de peixes.

Exemplos de doenças causadas por *Aeromonas* sp. em peixes são septicemia hemorrágica, doença ulcerosa e septicemia por *Aeromonas* móvel (Chen *et al.*, 2019). Essas doenças podem resultar em altas taxas de mortalidade e consequentemente altas perdas econômicas na aquicultura (Dias *et al.*, 2012). Os órgãos e tecidos suscetíveis incluem pele, brânquias, fígado, rim, baço e intestino (Wassif; Mohammed 2022).



Peixe infectado por *Aeromonas* sp., apresentando lesões graves.
Fonte: Rafael Lazzari

1. Resistência a Antibióticos Comuns

- A maioria das *Aeromonas* sp. é resistente à penicilina, ampicilina e carbenicilina (β -lactâmicos).
- Alguns estudos também já demonstraram resistência ou resistência intermediária a clindamicina, eritomicina e vancomicina (Leão *et al.* 2020).

2. Mecanismos de Resistência

- **Produção de Beta-lactamases:** enzimas que conferem resistência aos β -lactâmicos de espectro estreito (penicilinas e cefalosporinas de primeira geração) (Gastalho, 2013).
- **Bombas de Efluxo:** Expulsão ativa do antibiótico da célula bacteriana (Gazal *et al.*, 2020).
- **Capacidade de transferência horizontal:** quando uma bactéria consegue transferir seu gene de resistência para outra. Documentada em estudos onde isolados de *A. salmonicida* transferizam o seu plasmídeo **R** com resistência à oxitetraciclina, sulfonamidas, trimetoprim e estreptomicina para *Escherichia coli* (Sorum, 2006).

Streptococcus sp.

O gênero *Streptococcus* pertence à ordem Lactobacillales e à família Streptococcaceae. São bactérias em formato de cocos gram-positivos, arranjados em formato de cadeia ou em pares (Lannes-Costa *et al.*, 2021). As colônias possuem formato esférico e possuem diâmetro inferior a 2 mm (Whiley; Hardie, 2015).

Ceccarelli Jr. (2021) cita que o *Streptococcus* sp. pode estar presente em peixes já mortos e moribundos, inclusive em peixes com aparência sadia. Assim, a bactéria é disseminada na água e pode infectar outros peixes e causar elevada mortalidade.

A infecção por *Streptococcus* sp. ocasiona infecção sistêmica, contudo, a bactéria tende a afetar o sistema nervoso central, o que leva ao quadro de meningoencefalite bacteriana, e com a evolução dos sinais clínicos neurológicos, causa natação em rodopios e oculares causando exoftalmia e panoftalmia (necrose da esclera e/ou córneas).



Peixe com exoftalmia por *Streptococcus* sp.
Fonte: Juliano K. S. Henriques

1. Resistência a Antibióticos Comuns

- **Eritromicina; Penicilina.**
- **Fluoroquinolonas** como esparfloxacina, levofloxacina, gatifloxacina e a moxifloxacina devido a mutações nas Regiões Determinantes de Resistência às Quinolonas (QRDRs), que diminuem a susceptibilidade ao antibiótico.

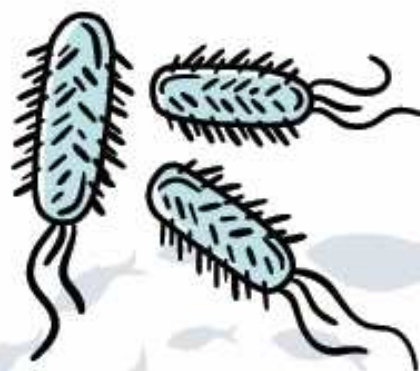
2. Mecanismos de Resistência

- **Resistência aos B-lactâmicos:** consiste em alterar uma ou mais das Proteínas Ligadoras de Penicilina para diminuir a afinidade de ligação com o antibiótico.
- **Bombas de Efluxo:** Expulsão ativa do antibiótico da célula bacteriana (Gazal *et al.*, 2020).
- **Transferência vertical de genes de resistência:** ocorre com *S. pneumoniae*, em que a resistência aos antibióticos é mediada por mutações nos genes cromossomais e transferida à linhagem da bactéria.
- **Metilação do ribossomo:** é causada por uma metiltransferase ribossômica codificada no gene *erm* (Erythromycin Resistance Methylase), que provoca uma modificação na conformação do ribossomo, diminuindo a afinidade pelo antibiótico.

Escherichia coli

O gênero *Escherichia* é composto por bactérias Gram-negativas em formato de bacilos, com tamanho variando entre 1,0 - 2,0 μm de largura e 2,0 - 6,0 μm de comprimento. São membros da família Enterobacteriaceae e amplamente distribuídas no ambiente aquático, podendo ser encontradas tanto em águas naturais quanto em sistemas de piscicultura. *Escherichia coli*, em particular, pode atuar como patógeno oportunista, causando infecções em peixes, especialmente sob condições de estresse ou má qualidade da água (Dias, 2021).

E. coli é uma bactéria comum no ambiente aquático, podendo causar problemas significativos no cultivo de peixes, especialmente em situações de alta densidade nas criações, má qualidade da água ou estresse nos peixes (Israel; Matos, 2023).



1. Resistência a Antibióticos Comuns

- **Sulfonamidas e Trimetoprim:** A resistência é comum devido ao uso frequente na piscicultura e em ambientes agrícolas (Israel; Matos, 2023).
- **Tetraciclínas:** O uso disseminado pode levar a alta resistência (Gastakho; Silva; Ramos, 2014).
- **Aminoglicosídeos (ex: gentamicina):** Menor resistência, mas pode ocorrer em casos de exposição repetida (Carvalho; Godoy; Vicentini, 2024).
- **Fluoroquinolonas:** Resistência em aumento, especialmente em áreas de uso intensivo (Gazal *et al.*, 2020).
- **Beta-lactâmicos (ex: penicilinas):** Muitas cepas de *E. coli* possuem resistência devido à produção de beta-lactamases (Dias, 2021).

2. Mecanismos de Resistência

- **Produção de Beta-lactamases:** Enzimas que inativam antibióticos beta-lactâmicos (Dias, 2021).
- **Modificação de Alvo:** Alteração dos sítios de ligação dos antibióticos, como nos ribossomos, para tetraciclina (Gastalho; Silva; Ramos, 2014).
- **Bombas de Efluxo:** Expulsão ativa do antibiótico da célula bacteriana (Gazal *et al.*, 2020).
- **Alteração de Permeabilidade:** Mudança na parede celular que impede a entrada de antibióticos (Carvalho; Godoy; Vicentini, 2024).

3. Impacto na Piscicultura

- As infecções podem resultar em perda de peso, aumento da mortalidade e infecções sistêmicas em peixes.
- A presença de cepas resistentes pode levar a dificuldades no manejo dos peixes e aumento nos custos de tratamento.

4 Prevenção e Controle

- Manutenção da qualidade da água.
- Uso responsável de antibióticos, bem como o uso de probióticos.
- Uso das vacinas disponíveis para profilaxia (principalmente para estreptococos).
- Implementação de boas práticas de manejo, como controle da densidade populacional e controle regular da temperatura.
- Monitoramento e análise microbiológica periódica para identificar rapidamente possíveis surtos de *E. coli* e ajustar o manejo adequadamente (Carvalho; Godoy; Vicentini, 2024).
- Realizar o manejo correto durante a transferência dos peixes para evitar traumatismos.
- Manter os níveis de oxigênio dissolvido e condições nutricionais adequadas.
- Verificar a presença de fungos e parasitas que podem comprometer a imunidade dos peixes e torná-los ainda mais suscetíveis a infecções por patógenos.

Considerações Finais

O uso indiscriminado de antibióticos em sistemas de piscicultura representa um risco significativo tanto para a saúde pública quanto para o ambiente. A resistência antimicrobiana, impulsionada pelo uso excessivo de antibióticos, compromete a eficácia de tratamentos em humanos e animais, tornando-se uma questão de importância global. Bactérias como *Aeromonas* sp., *Streptococcus* sp. e *Escherichia coli*, quando presentes em ambientes aquáticos e expostas continuamente a antimicrobianos, desenvolvem mecanismos de resistência que podem ser transferidos entre espécies, aumentando a prevalência de infecções difíceis de tratar.

Este guia orientativo reforça a necessidade de regulamentação e controle rigoroso sobre a administração de antimicrobianos no cultivo de peixes, propondo alternativas como o uso de probióticos e vacinas para mitigar a necessidade de antibióticos. A implementação de melhores práticas de manejo, monitoramento contínuo da qualidade da água e restrição na venda de antibióticos sem prescrição de um profissional habilitado, como um médico veterinário, são essenciais para minimizar a proliferação de cepas resistentes.

Por fim, este material técnico serve como um alerta para o desenvolvimento de políticas públicas mais eficazes, a fim de preservar a segurança dos alimentos, a saúde pública e a sustentabilidade dos sistemas de produção aquícola. A conscientização e colaboração entre produtores, autoridades regulatórias e profissionais da saúde é fundamental para enfrentar os desafios associados às bactérias multirresistentes no contexto do cultivo de organismos aquáticos.

Referências

Antimicrobial Resistance. **Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations**. Review on Antimicrobial Resistance, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 26, de 9 de julho de 2017**. Dispõe sobre a regulamentação do uso de medicamentos veterinários na aquicultura. Diário Oficial da União, 2017.

CABELLO, F. C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. **Environmental Microbiology**, v.8, n.7, p.1137-1144, 2006.

CABELLO, F. C. *et al.* Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. **Environmental microbiology**, v. 15, n. 7, p. 1917-1942, 2013.

CARVALHO, E. M. R.; GODOY, M. A. F.; VICENTINI, V. E. P. Resistência a antimicrobianos em *Escherichia coli* em amostras ambientais: uma breve revisão. **Revista Científica Semana Acadêmica**, Fortaleza-CE, v. 12, n. 242, p. 1-17, 2024.

CECCARELLI Jr. P. Streptococcosis é uma das mais importantes infecções bacterianas que afetam a produção de tilápia, **Panorama da Aquicultura**, 2021.

CHEN, F. *et al.* Isolation, identification and characteristics of *Aeromonas veronii* from diseased crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 10, 2019.

DE ASSIS, D. C. S. *et al.* Resíduos de antimicrobianos em pescado. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, nº 89 – agosto, 2018.

DE SOUZA GAZAL, L. E. *et al.* Antimicrobials and resistant bacteria in global fish farming and the possible risk for public health. **Review Article, Animal Pathology**, Arq. Inst. Biol. v. 87, p. 1-11, 2020.

DIAS, C. *et al.* Antimicrobial resistance pattern of *Aeromonas* spp. isolated from ornamental fish. **Journal of Aquaculture Research & Development**, v. 3, n. 3, p. 1-4, 2012.

Referências

DIAS, S. C. **Influência de um sistema de produção de pescado na resistência de *Escherichia coli* aos antimicrobianos**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, p.66, 2021.

DOAN, H. V. *et al.* Effects of elephant's foot (*Elephantopus scaber*) extract on growth performance, immune response, and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 93, p. 328–335, Oct, 2019.

ELABD, H. *et al.* Dietary supplementation of Moringa leaf meal for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: Effect on growth and stress indices. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, v. 45, n. 3, p. 265– 271, 2019.

FERRI, M. *et al.* Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 57, n. 13, p. 2857-2876, 2017.

GASTALHO, S. C. **Avaliação da resistência antimicrobiana de *Aeromonas* sp. e *Enterobacteriaceae* em robalo e dourada provenientes de sistemas de aquacultura**. Dissertação de Mestrado - Universidade de Coimbra, p. 80. 2013.

GAZAL, L. S. E. *et al.* **Antimicrobials and resistant bacteria in global fish farming and the possible risk for public health**, 2020.

GREENE, C. E. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. Grupo Gen-Editora Roca Ltda., 2015.

GUARDABASSI, L.; KRUSE, H. Princípios da utilização prudente e racional de antimicrobianos em animais. **Guia de antimicrobianos em Veterinária**, p. 17-30, 2010.

HUIJBERS, P. M. C. *et al.* Role of the environment in the transmission of antimicrobial resistance to humans: a review. **Environmental Science & technology**, v. 49, n. 20, p. 11993-12004, 2015.

Referências

HUTTNER, Angela *et al.* Antimicrobial resistance: a global view from the 2013 World Healthcare-Associated Infections Forum. **Antimicrobial resistance and Infection Control**, v. 2, p. 1-13, 2013.

ISRAEL, L. G.; MATOS, M. R. O uso de antibióticos na piscicultura. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, São Paulo, v. 9, n. 8, p. 2758-2773, ago., 2023.

LEÃO, S. O. A. *et al.* Ocorrência de *Aeromonas* multirresistentes em tambaquis cultivados em tanques escavados. **Scientia Amazonia**, v. 9, n. 4, CA17-CA24, 2020.

MARQUES, G. R.; CAMPLESI, A. C.; COSTA, M. T. Resistência bacteriana na medicina veterinária e sua relação com a saúde pública. **Veterinária e Zootecnia**, v. 30, p. 1-12, 2023.

SINDAN. Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal. *Compêndio de Produtos Veterinários*. São Paulo: SINDAN, 2018.

SORUM, H. Antimicrobial Drug Resistance in Fish Pathogens - Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. Washington, D. C. p. 213-237, 2006.

WASSIF, I.; MOHAMMED, R. Uso de tomilho e timol como agentes imunoestimulantes para controlar infecção experimental por *Aeromonas hydrophyla* em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Zagazig Vet J.* v. 50, p. 241-254, 2022.

WHILEY, R. A.; HARDIE, J. M. *Streptococcus*. Em: *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. John Wiley & Sons, v.86, p. 1, 2015.

APOIO:



**Programa de
Pós-graduação**
em Ecologia e
Conservação da
Biodiversidade



Uema
UNIVERSIDADE ESTADUAL
DO MARANHÃO



Eduema

CONCLUSÃO GERAL

A *Fridericia chica* é uma espécie vegetal rica em bioativos e, de acordo com os resultados obtidos neste estudo, representa um elevado potencial para o desenvolvimento de antimicrobianos de origem natural. O extrato fresco e suas frações demonstraram expressiva ação inibitória e bactericida frente a isolados de *Aeromonas* spp., patógenos de grande importância clínica e amplamente distribuído em ambientes aquáticos, afetando principalmente os peixes, mas também répteis, anfíbios e algumas aves.

Os resultados encontrados reforçam não somente a relevância dessa espécie vegetal e seu potencial farmacológico, mas evidenciam a importância do controle no uso inadequado de antibióticos e a necessidade do desenvolvimento de estratégias mais conscientes e sustentáveis para o controle de patógenos na aquicultura, uma vez que a água contaminada pode favorecer a disseminação de genes de resistência em vários ambientes, comprometendo a microbiota natural de outros ecossistemas aquáticos e impactando o equilíbrio ecológico.

Este cenário é ainda mais preocupante quando se observa que, atualmente, existem apenas dois antimicrobianos autorizados para uso em peixes no Brasil, e nenhum deles é específico para espécies nativas, como é o caso do *Colossoma macropomum*, utilizado neste estudo.

Dessa forma, a busca por alternativas terapêuticas de origem natural, especialmente a partir de compostos bioativos provenientes de plantas, surge não apenas como uma estratégia promissora para o enfrentamento da resistência bacteriana, mas também como uma ferramenta que contribui para práticas mais sustentáveis e alinhadas à conservação ambiental.

Por fim, como forma de promover a discussão da resistência a antimicrobianos em organismos aquáticos e seu impacto direto à Uma Só Saúde elaborou-se o guia orientativo (ilustrado e em linguagem acessível). Nesse contexto, destaca-se que a dissertação está em consonância com a missão das universidades em produzir e difundir conhecimento intramuros e extramuros, propiciando a interação dialógica, interdisciplinaridade, indissociabilidade entre o ensino-pesquisa-extensão, impacto na formação do estudante e na transformação social.

REFERÊNCIAS

- AL SALAH, D. M. M.; LAFFITE, A.; POTÉ, J. Occurrence of Bacterial Markers and Antibiotic Resistance Genes in Sub-Saharan Rivers Receiving Animal Farm Wastewaters. **Scientific Reports**, v.9, n.1, p.1–10, 2019.
- AL-REZA, S. M., RAHMAN, A., KANG, S. C. Chemical composition and inhibitory effect of essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. on food-borne pathogens. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, n. 6, p. 1176-1182, 2009.
- ALTWEGG, M. *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: MURRAY, P.R.; BARON, M.A.; PFALLER, E. J.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. (Ed). **Manual Clinical Microbiology American Society Microbiology**, p. 507-516, 1999.
- ALVAREZ-ORTEGA, N. Protective Effects of the Hydroethanolic Extract of *Fridericia chica* on Undifferentiated Human Neuroblastoma Cells Exposed to α -Zearalenol (α -ZEL) and β -Zearalenol (β -ZEL). **Toxins**, v. 13, n. 11, p. 748, 2021. <https://doi.org/10.3390/toxins13110748>.
- ALYAHYA, S. A. *et al.* Histopathological studies of experimental *Aeromonas hydrophila* infection in blue tilapia, *Oreochromis aureus*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 1, p. 182–185, 2018.
- ALZOREKY N. S.; NAKAHARA K. Antibacterial activity of extracts from some plants commonly consumed in Asia. **Int J Food Microbiol**, v. 80, p. 223-230, 2003.
- ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.
- ARNOLD, B. J.; HUANG, I. T.; HANAGE, W. P. Transferência horizontal de genes e evolução adaptativa em bactérias. **Nature Reviews Microbiology**. v. 20, n. 4, p. 206–218, 2021. doi: 10.1038/s41579-021-00650-4
- ARO, A. A. *et al.* *Arrabidaea chica* extract improves gait recovery and changes collagen *Arrabidaea chica* leaves and the in vitro singlet oxygen quenching capacity of their content during healing of the Achilles tendon. **Injury**, v. 44, p. 884-892, 2013.
- BANDEIRA JUNIOR, G. *et al.* Plant essential oils bacteria isolated from fish: an in vitro screening and in vivo efficacy of *Lippia organoides*. **Ciência Rural**, v. 49, n. 6, p. 1-8, 2019.
- BAQUERO, F. *et al.* Gene Transmission in the One Health Microbiosphere and the Channels of Antimicrobial Resistance. **Frontiers In Microbiology**, v. 10, p. 1-14, 2019.
- BARON, E. J. O.; PETERSON, L. R.; FINEGOLD, S. M. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 9 ed. Missouri, USA: **Mosby**, 1994. 1115p.

BARON, E. J.; PETERSON, L. R.; FINEGOLD, S. M. Bailey e Scott's Diagnosis Microbiology. 9ª Edição, CV Mosby Company, Toronto, v. 6, n. 2, p. 85-362, 1994.

BARROS, F. C. F., POHLIT, A. M.; CHAVES, F. C. M. Effect of substrate and cutting diameter on the propagation of *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl.(Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinias**, v. 10, p. 38-42, 2008.

BASKAR, V.; VENKATESH, R.; RAMALINGAM, S. Flavonoides (sistemas antioxidantes) em plantas superiores e sua resposta a estresses. Em *Antioxidantes e Enzimas Antioxidantes em Plantas Superiores* ; Springer: Cham, Suíça, p. 253–268, 2018.

BATALHA, A. D. S. J. *et al.* Therapeutic Potential of Leaves from *Fridericia chica* (Bonpl.) LG Lohmann: Botanical Aspects, Phytochemical and Biological, Anti-Inflammatory, Antioxidant and Healing Action. **Biomolecules**, v. 12, n. 9, p. 1208, 2022.

BELLO-LOPEZ, J. M. *et al.* Transferência horizontal de genes e sua associação com resistência a antibióticos no gênero *Aeromonas* spp. **Microorganismos**. v. 7, n. 9, p. 363, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090363>. Acesso em: 10 jun. 2025.

BORTOLOTTI, K. Da C. S. *et al.* Qualidade microbiológica de águas naturais quanto ao perfil de resistência de bactérias heterotróficas a antimicrobianos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 23, n. 4, p. 717-725, 2018.

BRANDÃO, M. G. L. *et al.* Complementary/Alternative Medicine in Latin America: Use of Herbal Remedies among a Brazilian Metropolitan Area Population. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v. 3, n. 1, p. 1-12, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Guia de validação e controle de qualidade analítica: fármacos em produtos para alimentação e medicamentos veterinários**, Brasília- DF, 2011.

BRITO, B. S. N. *et al.* Influência da temperatura de rotaevaporação e do tipo de resíduo na extração de compostos bioativos de jamelão (*Syzygium cumini*). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, 2021.

BUER, C. S.; IMIN, N; DJORDJEVIC, M. A. Flavonoids: new roles for old molecules. **Journal of integrative plant biology**, v. 52, n. 1, p. 98-111, 2010.

CAMPOS DE SIQUEIRA, F. *et al.* Profile of phenolic compounds and carotenoids of *Arrabidaea chica* leaves and the in vitro singlet oxygen quenching capacity of their hydrophilic extract. **Food research international** (Ottawa, Ont.), v. 126, p. 108597, 2019. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108597.

CHAGAS, M. S. S, *et al.* **Potencial terapêutico da espécie vegetal *Arrabidaea chica* Verlot.** 80f. Monografia (Especialização) - Instituto de Tecnologia em Fármacos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2016

CHIDEROLI, R. T. *et al.* Emergence of a new multidrug-resistant and highly virulent serotype of *Streptococcus agalactiae* in fish farms from Brazil. *Aquaculture*, v. 479, p. 45–51, 2017.

COIMBRA J. L. *et al.* Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.1209-1211, 2006.

COLLIGNON, P. J.; MCEWEN, S. A. One Health—Its Importance in Helping to Better Control Antimicrobial Resistance. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 4, n. 1, p.1–22, 2019.

COLWELL, R. R.; MACDONELL, M. T.; LEY, J. Proposal to Recognize the Family Aeromonadaceae. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 36, n. 3, p.473-477, 1986.

CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas: HL.** Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984.

CORTEZ, A. L. *et al.* Resistência antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp. isoladas de abatedouros de aves. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 2, p. 157-163, 2006. DOI: 10.1590/18081657v73p1572006

CRUZ, A. F. G, *et al.* High-Resolution Mass Spectrometry Identification and Characterization of Flavonoids from *Fridericia chica* Leaves Extract with Anti-Arbovirus Activity. **Molecules**, v. 27, n. 18, p. 6043, 2022.

DA SILVA, A. M. S. **Prospecção de óleos essenciais em combinação com florfenicol frente *Aeromonas* móveis isoladas de Tambaqui (*Colossoma macropomum*).** 71 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2021.

DE CASTRO, Í. R. R. DE CASTRO, L. R.; LIMA, A. C. S. Bactérias resistentes a antibióticos em ambiente aquático: efeito na produção animal. **Ciência Animal**, v. 32, n. 1, p. 84-99, jan./mar., 2022.

DIAS, E. C. M. *et al.* Uso de fitoterápicos e potenciais riscos de interações medicamentosas: reflexões para prática segura. **Revista Baiana de Saúde Pública, Salvador**, v. 41, n. 2, 2018.

DO, T. T.; MURPHY, S.; WALSH, F. Resistência a antibióticos e processo de tratamento de águas residuais. Resistência a antimicrobianos. Tratamento de águas residuais. **Processo**. p. 263–291, 2017.

DONG H. T., *et al.* *Aeromonas jandaei* e *Aeromonas veronii* causaram doença e mortalidade em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.). **J. Peixe Dis.** v. 40, p. 1395–1403, 2017.

FERNÁNDEZ BRAVO, A; FIGUERA, M. J. the Genus *Aeromonas*: Taxonomy,

Epidemiology, and Pathogenicity. **Microorganisms**, v. 8, n. 1, p. 1-39, 2020.

FERREIRA, M. G. R. **Crajiru** (*Arrabidaea chica* Verlot). Embrapa: Porto Velho, Brasil, 2005; Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/24786/1/folder-crajiru.pdf>>. Acesso em: 25 jun. 25.

FERRINHO, P. *et al.* Resistência antimicrobiana (ram), sociedade e meio ambiente: uma síndrome glocal. **Linha Editorial Internacional de Apoio aos Sistemas de Saúde**, p. 210-233, 2022.

FIDELIS, Q, *et al.* Chemical and Biological insights of Ouratea hexasperma (A. St.-Hil.) Baill.: A source of bioactive compounds with multifunctional properties. **Natural product research**, v. 33, n. 10, p. 1500-1503, 2019.

FIGUEIREDO, F. F. Evaluation of the gastroprotective and ulcer healing properties by *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann hydroethanolic extract of leaves. **Journal of ethnopharmacology**, v. 309, p. 116338, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116338>.

FIGUEIREDO, H.C.P., LEAL, C.A.G. Tecnologias aplicadas em sanidade de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 8-14, 2008.

FISHBASE. *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) Disponível em <<http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.php?ID=263eA T=tambaqui>>. Acesso em: 29 jun. 2025.

FRANZEN, F. L. *et al.* Teor e rendimento de extratos de flores obtidos por diferentes métodos e períodos de extração. **Acta Iguazu**, v. 7, n. 1, p. 9-21, 2018.

GAJDÁCS, M. *et al.* Antimicrobial Resistance in the Context of the Sustainable Development Goals: A Brief Review. **European Journal of Investigation Health, Psychology and Education**, v. 11, n. 1, p. 71-82, 2021.

GALLANI, S. U. *et al.* Septicemia por *Aeromonas* móvel em tambaqui (*Colossoma macropomum*): patogenicidade, letalidade e novas perspectivas para controle e desinfecção na aquicultura. **Microbial Pathogenesis**, v. 149, p. 104512, 2020. doi: 10.1016/j.micpath.2020.104512.

GEMELLI, T. F. *et al.* Evaluation of Safety of *Arrabidaea chica* Verlot (Bignoniaceae), a Plant with Healing Properties. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 78, n. 18, p. 1170-1180, 2015.

GHENGESH, K. S. *et al.* *Aeromonas*-associated infections in developing countries. **Journal Infect Developing Countries**, v.2, n.2, p.81-98, 2008.

GOUDING, M.; CARVALHO, M. L. Life history and management of the tambaqui, (*Colossoma macroporum*, Characidae): an important Amazonian food fish. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 1, p. 107-133, 1982.

GRENNI, P. Antimicrobial resistance in rivers: a review of the genes detected and new challenges. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 41, n. 3, p. 687-714, 2022.

GRENNI, P.; ANCONA, V.; CARACCILO, A. B. Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: A review. **Microchemical Journal**, v. 136, p. 25-39, 2018.

HASHEMI, S.R.; DAVOODI, H. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. **Veterinary Research Communications**, v.35, n. 3, p.169-180, jan. 2011.

HERNANDO-AMADO, S. *et al.* Defining and combating antibiotic resistance from One Health123 and Global Health perspectives. **Nature Microbiology**, v. 4, n. 9, p. 1432-1442, 22 ago. 2019.

HO, J. *et al.* Systematic review of human gut resistome studies revealed variable definitions and approaches. **Gut Microbes**, v. 12, n. 1, 2020

HOLMES, P.; NICCOLLS, L. M.; SARTORY, D. P. The ecology of mesophilic *Aeromonas* in the aquatic environment. In: AUSTIN, B.; ALTWEGG, M.; GOSLING, P.J.; JOSEPH, S. The genus *Aeromonas*. **Chicester: John Wiley & Sons**, p.127-150, 1996.

HOSSAIN, S.; HEO, G. J. Ornamental fish: a potencial source of pathogenic and multidrugresistant motile *Aeromonas* spp. **Letters in Applied Microbiology**, v.72, n.1, p.2-12, 2021.

HU, Y.; GAO, G. F.; ZHU, B. O resistoma antibiótico: fluxo gênico em ambientes, animais e seres humanos. **Front. Med.** v. 11 , p. 161–168, 2017.

IANCK, M. A. *et al.* Conhecimento e uso de plantas medicinais por usuários de unidades básicas de saúde na região de Colombo-PR. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 11, n. 8, p. 29-30, 2017.

IGBINOSA, I. H. *et al.* Infecções emergentes por espécies de *Aeromonas* e sua importância na saúde pública. **Sci. World J.** p. 1–13, 2012.

JANDA, J. M., ABBOTT, S. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity and infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v.23, n.1, p.35-73, 2010.

JASOVSKÝ, D. *et al.* Antimicrobial resistance-a threat to the world's sustainable development. **Upsala Journal of Medical Science**, v. 121, n. 3, p.159-64, 2016.

JOHN, N.; HATHA, A. A. M. Distribution, extracellular virulence factors and drug resistance of motile aeromonads in fresh water ornamental fishes and associated carriage water. **International Journal of Aquaculture**, v.3, n.17, p.92-100, 2013.

KOONIN E. V.; MAKAROVA, K. S. Elementos genéticos móveis e evolução dos sistemas CRISPR-cas: de ida e volta. **Biologia e evolução do genoma**, v. 9, n. 10, p. 2812–2825, 2017. doi: 10.1093/gbe/evx192.

KRAEMER, S. A.; RAMACHANDRAN, A.; PERRON, G. G. Antibiotic Pollution in the Environment: From Microbial Ecology to Public Policy. **Microorganisms**, v.7, n.180, p.1-24, 2019.

KUBITZA F.; KUBITZA L. M. M. Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados. **Coleção Piscicultura Avançada**, Jundiaí-SP. 2004.

LAXMINARAYAN, R. Antibiotic effectiveness: balancing conservation against innovation. **Science**, v. 345, n. 6202, p. 1299-1301, 2014.

LAZADO, C.C.; ZILBERG, D. Pathogenic characteristics of *Aeromonas veronii* isolated from the liver of a diseased guppy (*Poecilia reticulata*). **Letters in Applied Microbiology**, v.67, p.476-483, 2018.

LEÃO, S.O.A. *et al.* Ocorrência de *Aeromonas* multirresistentes em tambaquis cultivados em tanques escavados. **Sciencia Amazonia**, v. 9, n. 4, p. 17-24, 2020.

LEIRA, M. H. *et al.* Principais infecções bacterianas na criação de peixes de água doce do Brasil—Uma revisão. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 3, n. 1, p. 44- 59, 2016.

LERMINIAUX N. A.; CAMERON A. D. S. Transferência horizontal de genes de resistência a antibióticos em ambientes clínicos. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 65, n. 1, p. 34–44, 2019. doi: 10.1139/cjm-2018-0275.

LI B. *et al.* Dissecando a transferência gênica horizontal e vertical de plasmídeos de resistência a antibióticos em comunidades bacterianas usando microfluídica. **Environment International**. v.131, 2019.

LIMA, C. A.; GULDING, M. **Os Frutos do Tambaqui, ecologia, conservação e cultivo na Amazônia**. Tefé-AM. Sociedade Civil do Mamirauá, CNPq. 1998.

LIU, Q. *et al.* Dual effect of glucuronidation of a pyrogallol-type phytophenol antioxidant: a comparison between scutellarein and scutellarin. **Molecules**, v. 23, n. 12, p. 3225, 2018.

LOHMANN, L. G. Bignoniaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB112305>>. Acesso em: 28 fev. 2025.

LOWRY, R. *et al.* Flagelos de *Aeromonas* e Mecanismos de Colonização. **Adv. Microb. Physiol**, v. 65, p. 203–256, 2014.

- MACHADO T. B. *et al.* In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. **J Antimicrob Ag**, v. 21, p. 279-284, 2003.
- MACHADO, A. I. M. R.; ROMERO, R. Bignoniaceae das serras dos municípios de Capitólio e Delfinópolis, Minas Gerais. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro , v. 65, n. 4, p. 1003-1021, 2014.
- MAFIOLETI, L. *et al.* Evaluation of the toxicity and antimicrobial activity of hydroethanolic extract of *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, p. 576–582, 2013. doi: 10.1016/j.jep.2013.09.008
- MARSHALL, B. M.; LEVY, S. B. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. **Clinical Microbiology Reviews**. v.24, n. 4, 2011.
- MARTI, E.; VARIATZA, E.; BALCAZAR, J. L. The role of aquatic ecosystems as reservoirs of antibiotic resistance. **Trends in Microbiology**, v. 22, n. 1, p. 36–41, 2014.
- MARTIN-CARNAHAN, A.; JOSEPH, S.W. Aeromonadales. In: BRENNER, D.J. *et al.* Bergey's manual of systematic bacteriology: the proteobacteria. New York: **Springer-Verlag**, ed. 2, v.2, p.556-578, 2005.
- MARTINO, M. E.; FASOLATO, L.; CARDAZZO, B. *Aeromonas*. **Encicl. Saúde Alimentar**, p. 61–67, 2016.
- MARTINS, F. J. *et al.* Antioxidant activity and potential photoprotective from amazon native flora extracts. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 161, p. 34-39, 2016.
- MARTINS, S. R. O. **Caracterização e avaliação dos padrões de resistência antimicrobiana no bacterioma da bacia do Rio Jaguaribe (Ceará, Brasil)**. Dissertação (mestrado), UFCE, Instituto de Ciências do Mar, PPGCMT, Fortaleza, 2023.
- MCEWEN, S. A.; C.; PETER J. Antimicrobial Resistance: a one health perspective. Antimicrobial Resistance In Bacteria From Livestock And Companion Animals. **American Society of Microbiology**, p. 521-547, 2018.
- MCEWEN, S. A.; COLLIGNON, P. J. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. **Microbiology Spectrum**, v. 6, p. 521-547, 2018.
- MICHEL, A. F. *et al.* Evaluation of anti-inflammatory, antiangiogenic and antiproliferative activities of *Arrabidaea chica* crude extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 165, p. 29-38, 2015.
- MILIUS, S. **Sementes da Amazônia se espalham melhor por fezes de peixe**. Wired. 2011. Disponível em: <https://www.wired.com/2011/03/fish-amazon-seeds/>. Acesso em: 10 jun. 25.
- MIRANDA, N. *et al.* Pheophorbide a compound isolated from the leaves of *Arrabidaea chica*, induces photodynamic inactivation of *Trypanosoma cruzi*. **Photodiagnosis Photodyn and Therapy**, v. 19, p. 256-265, 2017.

MOHAMED A. A.; ALI S. I.; EL-BAZ, F. K. Antioxidant and antibacterial activities of crude extracts and essential oils of *Syzygium cumini* leaves. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, 2013.

MURRAY, C. J. *et al.* Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **Lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629–655, 2022.

NASCIMENTO, S. F. **Caracterização e Avaliação da Citotoxicidade do Extrato Hidroetanólico de *Arrabidaea chica* Em Linhagens de Celulas Humanas**. 78p . Grau de dissertação– Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará, Belém, PA .2016.

NAZARÉ DE F.; BRAZ, J. Identificação da atividade antimicrobiana de fitoterápicos sobre Cepas *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 11303). **Mastereditora**, v. 33, n. 2, p. 19-23, 2020.

NEIVA, J. Influência do uso e ocupação do solo na presença de antibióticos em corpos hídricos superficiais. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 19, n. 4, p. 107-113, 2014.

OLIVEIRA, D.P.C, *et al.* Atividade antiinflamatória do extrato aquoso de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl. sobre o edema induzido por venenos de serpentes amazônicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 643-649, 2009.

OLIVEIRA, G. S. *et al.* **Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos de *Fridericia chica* (Bonpl.) LG Lohmann (crajiu) utilizando solventes novos e reaproveitados**. 37f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Biotecnologia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2022.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde: **Trabalhando juntos para combater a resistência aos antimicrobianos**. 2020.

PAQUOLA, C. M. *et al.* Transferência horizontal de genes construindo genomas procariontes: genes relacionados à troca entre a célula e o ambiente são frequentemente transferidos. **Journal of Molecular Evolution**. v.86, p. 190–203, 2018.

PAULETTI, P.M; BOLZANI, V.S; YOUNG, M.C.M. Constituintes químicos de *Arrabidaea samydoides* (Bignoniaceae). **Química Nova**, v. 26, p. 641-643, 2003.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. Maringá: **Eduem**, ed. 3, p. 311, 2008.

PEIXE BR. Associação Brasileira da Piscicultura – Peixe Br. **Anuário 2024 Peixe BR da Piscicultura**. 2024. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2024/>. Acesso em: 10 jun. de 2025.

PEIXOTO, L. J. S. *et al.* *Aeromonas* spp.: Fatores de virulência e perfis de resistência a antimicrobianos e metais pesados. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.79, n.3, p.453-461, 2012.

PERCIVAL, S. L.; WILLIAMS, D. W. *Microbiologia de doenças transmitidas pela água*. Nova York, EUA: **Academic Press**, ed. 2, 2014.

PEREIRA, A. C. A.; NARCISO, B. B. D.; MANSANO, C. F. M. Resistência antimicrobiana no contexto de saúde única e produção animal, uma revisão. **Archives of Health**, Curitiba, v. 2, n. 4, p. 721-724, 2021.

PERRY, J. A.; WRIGHT, G. D. O 'móbiloma' da resistência a antibióticos: em busca da ligação entre ambiente e clínica. **Front. Microbiol**, v. 4, p. 138, 2013.

PESSOA, R. B. G. *et al.* The genus *Aeromonas*: A general approach. **Microbial Pathogenesis**, [s.l.], v. 130, p.81-94, 2019.

PINTO, G. M. F., *et al.* Estudo do descarte residencial de medicamentos vencidos na região de Paulínia (SP), Brasil. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 19, p. 219-224, 2014.

POPOFF, M. Genus III *Aeromonas*. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. **Bergey's manual of systematic bacteriology**, v.1, p.545-548, 1984.

PORTAL AMAZÔNIA. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). Disponível em: <<https://portalamazonia.com/noticias/tambacu-e-tambatinga-conheca-dois-peixes-hibridos-criados-a-partir-do-tambaqui-da-amazonia/>>. Acesso em: 2 fev. 2026.

PRESTINACI, F.; PEZZOTTI, P.; PANTOSTI, A. Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon. **Pathogeny of Global Health**, v. 109, n. 7, p. 309–318, 2015.

PROENÇA C. E. M.; BITTENCOURT, P. R. L. Manual de piscicultura tropical. Ed. **MMA/IBAMA**, p. 195, Brasília, 1994.

RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Maringá, v. 11, n. 2, p. 57-69, 2001.

RESENDE, J. A.; SILVA, V. L.; DINIZ, C. G. Aquatic environments in the One Health context: modulating the antimicrobial resistance phenomenon. **Acta Limnológica Brasiliensia**, v. 32, n. 102, p. 1–10, 2020.

RIBEIRO F. M. *et al.* The extended production of UV-induced reactive oxygen species in L929 fibroblasts is attenuated by posttreatment with *Arrabidaea chica* through scavenging mechanisms. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 178, 175–181, 2018.

RIBEIRO, C.M. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia. **Infarma**, v. 21, p. 45-49, 2009.

ROCHA, K. B. F. *et al.* Effect of *Arrabidaea chica* extract against chemically induced breast cancer in animal model. **Acta Cir Bras**, v. 34, n. 10, p. e201901001, dez. 2019.

SANTOS, D. C. P. *et al.* Bioprospecção das atividades antioxidante, antibacteriana e antibiofilme contra *Corynebacterium ulcerans* e toxicidade de *Stryphnodendron coriaceum* Benth. **Scientia Plena**, v.16, n.10, 2020.

SARTORATTO, A. *et al.* Composição e atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas aromáticas usadas no Brasil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 275-280, 2004.

SEBASTIÃO, F. A. *et al.* Identification of bacterial fish pathogens in Brazil by direct colony PCR and 16S rRNA gene sequencing. **Advances in Microbiology**, v. 5, p. 409-424, 2015.

SILVA, A. R de A. *et al.* Antimicrobial resistance profile of *Aeromonas* spp. isolated from tambaqui fish (*Colossoma macropomum*). **Revista Ambiente & Água**, v. 19, 2024.

SILVA, L. C.; CARDOSO, A.; VIEIRA, J. M. B. D. Dispersão da resistência a antimicrobianos no ambiente sob o conceito de Saúde Única. **Concilium**, v. 22, n. 6, p. 937-948, 2022.

SILVA, R. A. *et al.* Antimicrobial resistance: formulation of the response in the global health context. **Saúde Debate**, v. 44, n. 126, p. 607-623, 2020.

SILVA-SILVA, J. V., 2021. Carajurin: a anthocyanidin from *Arrabidaea chica* as a potential biological marker of antileishmanial activity. *Biomedicine & pharmacotherapy* = *Biomedecine & pharmacotherapie*, v. 141, p. 111910. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111910>.

SIQUEIRA, F. C. de *et al.* Scavenging Capacity of Extracts of *Arrabidaea chica* Leaves from the Amazonia against ROS and RNS of Physiological and Food Relevance. *Antioxidants* (Basel), v. 11, n. 10, p. 1909, set. 2022.

SIRAICHI, J. T. G. *et al.* Antioxidant capacity of the leaf extract obtained from *Arrabidaea chica* cultivated in Southern Brazil. **PLoS ONE**, v. 8, p. 72733, 2013.

SMITH, P. R. *et al.* Guidelines for antimicrobial use in aquaculture. In: GUARDABASSI, L.; JENSEN, L. B.; KRUSE, H. (Ed.). **Guide to antimicrobial use in animals**. p.207-216, 2008.

SOUSA, J. C. G. *et al.* A review on environmental monitoring of water organic pollutants identified by EU guidelines. **Journal of hazardous materials**, v. 344, p. 146-162, 2018.

SOUZA, P. C., *et al.* *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) as an alternative host to study fungal infections. **J Microbiol Methods**, v. 118, p. 182-6, 2015.

SOUZA, R. C. *et al.* Antimicrobial and synergistic activity of essential oils of *Aloysia triphylla* and *Lippia alba* against *Aeromonas* spp. **Microbial Pathogenesis**, v. 113, p. 29- 33, 2017

STEVENSON, C. *et al.* A mobilidade gênica promove a disseminação da resistência em populações bacterianas. **The ISME Journal**. v. 11, n. 8, p. 1930–1932, 2017. doi: 10.1038/ismej.2017.42.

TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M. L. An overall estimation of losses caused by diseases in the Brazilian fish farms. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 41, n. 4, p. 913- 918, 2017.

TAVECHIO, W. L. G.; GUIDELLI, G.; PORTZ, L. Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 35, n. 2, p. 335-341, 2009.

UNEP. United Nations Environment Programme. **Antimicrobial resistance: a global threat**. 2022.

VASCONCELOS, C. C. *et al.* *Arrabidaea chica* Verlot fractions reduce MIA-induced osteoarthritis progression in rat knees. **Inflammopharmacology**, v. 29, p. 735–752, 2021.

VEBER, J. Determinação dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de extratos aquosos e etanólicos de Jambolão (*Syzygium cumini* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 2, p. 267–273, 2015.

VERBEL, J. The aqueous extract of *Fridericia chica* grown in northern Colombia ameliorates toxicity induced by Tergitol on *Caenorhabditis elegans*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. v. 244, p. 109026, 2021. doi: 10.1016/j.cbpc.2021.109026

VERRUCK, S. PRUDENCIO, E. S. SILVEIRA, S. M. Compostos Biotáticos com capacidade antioxidante e antimicrobiana em frutas. **Revista CSBEA**, Santa Catarina, v. 1, n. 1, p. 111-121, 2018.

VIEIRA, B. B.; PEREIRA, E. L. Potencial dos probióticos para o uso na aquicultura. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 14, n. 2, p. 1223-1241, 2017.

WATERHOUSE, A. **Folin-Ciocalteu Micro Method for Total Phenol in Wine**. 2012. Disponível em: <http://waterhouse.ucdavis.edu/faq/folincioalteau-micro-method-for-total-phenol-in-wine>. Acesso em: 24 nov. de 2024.

WHO. World Health Organization. **Antimicrobial resistance: global report on surveillance**. World Health Organization Library Cataloguing [Internet]. 2021. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241564748>. Acesso em 22 jun. de 2025.

wine.

ZHENG D.; YIN G.; LIU M. Uma revisão sistemática de antibióticos e genes de resistência a antibióticos em ambientes estuarinos e costeiros. **Ciência do Meio Ambiente Total**, v. 777, 2021.

ZORN, B. *et al.* 3-Desoxyanthocyanidins from *Arrabidaea chica*. **Fitoquímica**, v. 56, n. 831–835, 2001